

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI
FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA**



A.D. MDLXII

DOTTORATO DI RICERCA IN

RIPRODUZIONE, PRODUZIONE E BENESSERE ANIMALE

Coordinatore: Prof. Salvatore Naitana

**Valutazione di alcuni parametri fisici,
ematologici e biochimici come
indicatori dello stato di benessere nei
cavalli da polo**



Tutor
Dott.ssa Maria Luisa Pinna Parpaglia

Tesi di Dottorato di Ricerca
Dott.ssa Rosanna Zobba

XXI Ciclo
Anno Accademico 2005-2008

Un ringraziamento particolare ai colleghi:

***Mauro Ardu,
Serena Niccolini e
Francesca Cubeddu.***

Indice

1. Premessa	pag 3
2. Introduzione	pag 6
2.1. SISTEMA CARDIOVASCOLARE ED EMATOLOGIA NELL'ESERCIZIO	pag 10
2.2. VO_{2max}	pag 12
2.3. FREQUENZA CARDIACA	pag 14
2.4. ALTERAZIONI EMATOLOGICHE DURANTE L'ESERCIZIO	pag 17
2.5. APPARATO MUSCOLARE E METABOLISMO ENERGETICO	pag 25
2.6. ACCUMULO DI LATTATO DURANTE L'ESERCIZIO	pag 35
2.7. CK, LDH, AST	pag 39
2.8. SUDORAZIONE ED ELETTROLITI	pag 43
3. Materiale e Metodi	pag 49
4. Risultati	pag 54
5. Discussioni	pag 84
6. Conclusioni	pag 97
7. Bibliografia	pag 99

1. PREMESSA

Lo scopo di questa ricerca è stato quello di valutare il comportamento e le alterazioni di alcuni parametri fisici, ematologici ed ematochimici nei cavalli da polo, e di utilizzare queste informazioni per indagare sui cambiamenti omeostatici indotti da questa disciplina equestre e sulla qualità dello sforzo fisico richiesto. Lo studio è stato svolto in occasione del terzo torneo internazionale che si è tenuto a Porto Cervo nei giorni 6-13 luglio 2008, coinvolgendo squadre e cavalli provenienti da varie parti del mondo. Con l'interpretazione dei dati ottenuti e con il confronto degli stessi con quanto riportato in altre discipline sportive del cavallo, si è cercato sia di classificare il grado di impegno fisico-metabolico richiesto dal polo, sia di valutare se il tipo di stress indotto dall'esercizio fosse una risposta adattativa dell'organismo all'incremento delle richieste energetiche o una condizione di sovraffaticamento e sfruttamento eccessivo, destinato a sfociare prima in una riduzione delle performance e poi in una sindrome patologica vera e propria.

Oggi vi è un'accresciuta sensibilità dell'opinione pubblica sul tema del rispetto del benessere animale che coinvolge tutti i campi in cui esiste un rapporto uomo-animale basato sia su motivi produttivi ed economici, sia di convivenza affettiva o culturale (animali domestici, spettacoli, sport, terapie riabilitative...). Nell'ambito delle competizioni sportive del cavallo è necessario rispettare le norme di benessere dei soggetti ed evitare il verificarsi di "*fatiche o lavori insopportabili*" (art. 544-ter, legge n° 189 Codice Penale) provocati da esercizi fisici eccessivi, di lunga durata o in condizioni ambientali non adatte tali da sfociare in situazioni patologiche vere e proprie (come i colpi di calore, la rabdomiolisi, le alterazioni comportamentali, le sindromi da sovra-affaticamento...). In questi casi è indispensabile poter disporre di parametri oggettivi per valutare le condizioni fisiche, metaboliche e psicologiche del soggetto,

poter rendere quantificabile lo stato di benessere o malessere dell'animale, e riconoscere quei casi in cui l'animale diventa oggetto di tali *“fatiche o lavori insopportabili”*.

In letteratura esistono molti lavori scientifici recenti inerenti la valutazione dei cambiamenti dell'omeostasi sia in cavalli da corsa, sottoposti ad esercizi intensi e di breve durata, sia in cavalli da endurance, sottoposti ad un lavoro meno intenso ma di lunga durata. Considerato il valore economico dei cavalli da polo, il tempo necessario per il loro allenamento e il prestigio di questo gioco, sembra quasi sorprendente che non ci siano grossi lavori riguardanti le richieste in termini di sforzo fisico e metabolico imposte da questo sport, fatta eccezione per un lavoro inerente il monitoraggio della frequenza cardiaca (Marlin e Allen, 1999) e due lavori sulle variazioni di alcuni parametri di laboratorio (Craig et al, 1985; Adeyefa et al, 1987). Nello studio risalente al 1985 i parametri ematologici valutati riguardavano solo l'ematocrito e la concentrazione emoglobinica, e tra gli esami biochimici non veniva preso in considerazione un profilo muscolare completo. Il lavoro del 1987 è più completo come tipologia di parametri analizzati, ma la loro valutazione veniva effettuata solo prima e subito dopo la gara e con strumentazioni e metodiche ormai superate (Adeyefa et al, 1987). In entrambi questi lavori, non veniva valutato l'andamento dei parametri tra l'inizio e la fine del torneo. Le altre ricerche sul polo, presenti in letteratura, riguardano l'incidenza di alcune patologie specifiche, quale la rhabdomiolisi e l'emorragia polmonare (McGowan et al, 2002; Voynick e Sweeney, 1986), e studi, eseguiti su treadmill, in cui i cavalli da polo sono stati utilizzati per alcune valutazioni sulla fisiologia dell'esercizio (Casaux-Alsina e Catalano, 1978; Saibene et al, 1985; Harkins et al, 1993).

Queste considerazioni sulla scarsità di dati presenti in letteratura, l'esistenza di un torneo di polo nella nostra isola e la possibilità di collaborare con i veterinari liberi

professionisti impegnati in tale manifestazione, ci hanno portato a sviluppare questa linea di ricerca.

2. INTRODUZIONE

La fisiologia e la biochimica dell'esercizio sono aree di studio importanti legate alla scienza della medicina sportiva. La **fisiologia** si occupa delle risposte che il cavallo attua durante l'esercizio, e di come queste risposte possano essere modificate e migliorate con una serie di interventi che includono l'allenamento, il periodo di riposo e i cambiamenti alimentari. Lo studio della fisiologia dell'esercizio richiede spesso la determinazione di parametri fisici (temperatura corporea, frequenza cardiaca...) e biochimici (acido lattico, VO_{2max} , ...). Tali determinazioni aiutano a descrivere l'intensità dell'esercizio e sono fondamentali per la valutazione delle performance. Nei grossi centri di allenamento dove vengono preparati e monitorati i più grandi atleti del genere umano, sono eseguite di routine sia per regolare l'intensità dell'allenamento, sia per dimostrare se un atleta manifesta un miglioramento delle performance. Sono molto utili anche per identificare talenti adatti a specifici eventi sportivi. La **biochimica** dell'esercizio si riferisce allo studio dei cambiamenti indotti dall'attività fisica sulle cellule e sui loro componenti, di come le cellule provvedono a produrre energia per l'esercizio, di quale tipo di "carburante" viene utilizzato durante diversi tipi di attività sportiva, di come alcuni interventi, come l'allenamento e la dieta, possano modificare le funzioni cellulari, di quali siano le cause di affaticamento, di come ridurlo e di come aumentare le performance.

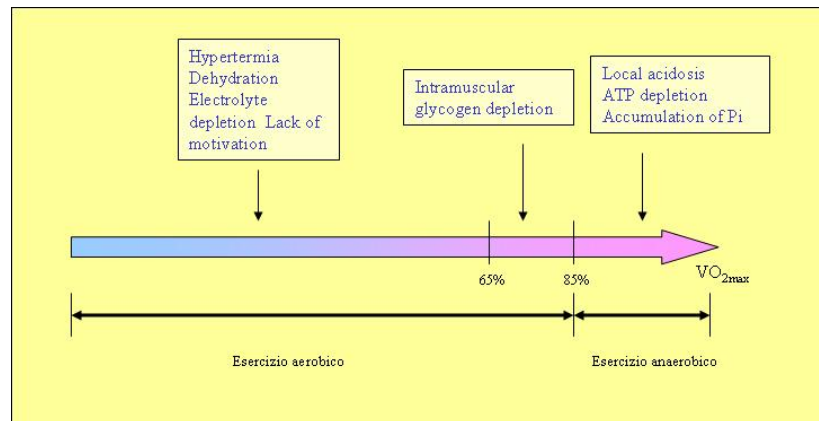
L'esecuzione ed il mantenimento dell'esercizio fisico, sia durante l'allenamento che nelle competizioni sportive, dipendono dall'attività integrata di numerosi sistemi del corpo con conseguenti notevoli cambiamenti dello stato basale: **i sistemi muscolare e nervoso**, essenziali nel determinare il movimento, ed **i sistemi cardiocircolatorio e respiratorio**, essenziali nel mantenere il movimento, nel fornire i principi energetici durante il lavoro e nell'eliminare il calore e i cataboliti prodotti durante l'attività

muscolare intensa (Messina et al, 2006). L'esercizio fisico rappresenta quindi una fonte
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

di **stress**, inteso come alterazione dell'equilibrio omeostatico del soggetto, che coinvolge la componente fisica, metabolica e psichica. Queste componenti subiscono delle modificazioni allo scopo di adeguare l'individuo alla nuova condizione "ambientale" rimanendo fisiologicamente efficiente: determinano la cosiddetta *fitness* o stato di adattamento dell'individuo. È chiaro che nel caso in cui questi stimoli stressanti, legati all'esercizio, siano troppo pesanti, troppo prolungati nel tempo e/o seguiti da un periodo di riposo insufficiente, l'animale non riesce più a mantenere l'omeostasi e può insorgere uno stato di sovraffaticamento che inizialmente si manifesta solo con riduzione delle performance ma che può sfociare in una vera e propria condizione patologica: si può creare quindi una situazione di **distress** (Fraser e Broom, 1990). I meccanismi all'origine dell'esaurimento fisico negli esercizi particolarmente intensi sono diversi da quelli che possono derivare da esercizi di più lunga durata con intensità moderate. Nel primo caso, la causa fondamentale è rappresentata dall'accumulo di acido lattico e protoni nei muscoli con conseguente abbassamento del pH a valori di 6.5-6.3 che agisce inibendo sia l'utilizzo del calcio nella fase di rilassamento muscolare, sia l'attivazione degli enzimi necessari per la sintesi dell'ATP (fosfofruttokinasi). Inoltre altera la struttura della testa della miosina riducendo la capacità di legame con l'ATP. L'altro fattore responsabile dell'affaticamento negli esercizi intensi è dato dal depauperamento delle riserve energetiche, in particolare il glicogeno. Negli esercizi di resistenza, le cause sono rappresentate sia dall'esaurimento del glicogeno, dalla riduzione del glucosio, dall'eccessiva perdita di elettroliti e di acqua attraverso il sudore, e dall'ipertermia (Rivero et al, 2004). Al contrario l'accumulo di acido lattico in questo caso è molto limitato.

I primi segnali di esaurimento fisico possono essere riconosciuti valutando la frequenza respiratoria e cardiaca, il grado di sudorazione, la temperatura corporea, i cambiamenti comportamentali e le alterazioni della coordinazione e dell'andatura (Freeman DW). La Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

comparsa di sintomi indicanti una situazione di distress denotano il mancato adattamento alla nuova situazione ambientale o uno stato di malessere del soggetto, e quindi possono essere considerati come un segno di mancato rispetto del benessere animale.



La necessità di regolamentare in modo più chiaro e più severo il rispetto del benessere animale si è fatto sentire sia a livello nazionale sia a livello europeo. Il 23 gennaio 2006 la **Commissione delle Comunità Europee** ha comunicato un programma d'azione comunitario per la protezione ed il benessere degli animali da sviluppare entro il 2006-2010, mentre a livello nazionale con la legge n° 189 del 20 luglio 2004 è stato modificato il **Codice Penale** con l'inserimento dell'Art. 544-ter, con il quale si dichiara che: *“Chiunque, per crudeltà o senza necessità, cagiona una lesione ad un animale ovvero lo sottopone a sevizie o a comportamenti o a fatiche o a lavori insopportabili per le sue caratteristiche etologiche è punito con la reclusione.. o con la multa... La stessa pena si applica a chiunque somministra agli animali sostanze stupefacenti o vietate ovvero li sottopone a trattamenti che procurano un danno alla salute degli stessi..”*. Questa norma ha una valenza generale e può essere applicata anche alle varie

attività sportive nelle quali è previsto l'utilizzo dell'animale. Una circostanza in cui si
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

potrebbero verificare maltrattamenti a seguito di *“fatiche o lavori insopportabili”* è quella in cui l’animale è sottoposto ad esercizi fisici così intensi, di lunga durata o in condizioni ambientali non adatte tali da sfociare in situazioni patologiche vere e proprie (come i colpi di calore, la rabdomiolisi, le alterazioni comportamentali, le sindromi da sovra-affaticamento...). In questi casi è indispensabile poter disporre di parametri oggettivi per valutare le condizioni fisiche, metaboliche e psicologiche del soggetto, poter rendere quantificabile lo stato di benessere o malessere dell’animale, e riconoscere quei casi in cui l’animale diventa oggetto di tali *“fatiche o lavori insopportabili”*. Nel **Codice Etico della FISE** (Federazione internazionale sport equestri), si dichiara che *“Il comportamento verso i cavalli deve ispirarsi ai principi che tutelano il benessere e il rispetto nei loro confronti”*. Andando più nello specifico, è possibile osservare che, nei regolamenti dei singoli sport equestri, si fa sempre riferimento al rispetto del benessere del cavallo; così accade nel **regolamento internazionale del polo** dove è previsto che i cavalieri *“debbano assicurarsi del benessere dei loro cavalli e della loro incolumità”* e che *“la scelta del cavallo debba basarsi sulle caratteristiche di salute dello stesso tali da non rappresentare un pericolo per se stesso e per gli altri animali”*. Sempre per garantire il benessere dei cavalli, è previsto che *“qualsiasi pony che abbia perdite di sangue dalla bocca, dai fianchi o da qualsiasi altra parte, deve essere escluso dalla gara”*, *“...nel caso di caduta del pony, bisogna accertarsi della sua incolumità facendolo trottare prima di autorizzare il cavaliere a risalire in sella...”*, *“...qualunque cavallo zoppo deve essere escluso dalla gara”*, *“...le fruste e/o gli speroni non dovranno essere usati in modo non necessario, inutile o eccessivo...”*, *“...nessun giocatore potrà colpire intenzionalmente con la stecca il proprio cavallo...”*.

2.1. SISTEMA CARDIOVASCOLARE ED EMATOLOGIA NELL'ESERCIZIO

Il cavallo mostra un'evidente superiorità atletica nei confronti di altre specie animali, compreso l'uomo. La differenza non riguarda gli aspetti qualitativi dei meccanismi fisiologici che stanno alla base dell'esecuzione di un esercizio fisico. La meccanica respiratoria, cardiocircolatoria e muscolare, la capacità di dissipare calore e le modalità di produzione d'energia sono sostanzialmente le stesse nelle diverse specie. Ciò che rende speciale il cavallo è l'aspetto "quantitativo" dei meccanismi fisiologici messi in atto durante l'attività fisica (Snow e Harris, 1985). La caratteristica fondamentale del cavallo è di saper ricavare l'energia per la locomozione dal metabolismo aerobico in quantità e per tempi più lunghi rispetto alle altre specie. Ha una soglia anaerobica particolarmente elevata, positivamente influenzabile dall'allenamento: il muscolo scheletrico del cavallo contiene abbondanti riserve di glicogeno, ha una concentrazione di mitocondri per unità di massa muscolare maggiore rispetto all'uomo, e una percentuale di massa muscolare superiore rispetto alle altre specie animali (Kearns et al, 2002). Queste ottime caratteristiche anatomiche si associano alla capacità del cavallo di farne il migliore uso utilizzando le riserve di glicogeno mediante metabolismo aerobico in misura maggiore rispetto agli altri mammiferi. Il cavallo ha una capacità aerobica superiore all'uomo (Kearns et al, 2002) e, quando viene sottoposto ad esercizi massimali, è in grado di aumentare il consumo di ossigeno di circa 40 volte rispetto ai valori di riposo (Swenson e Reece, 2002). Questa maggiore disponibilità di ossigeno è assicurata mediante una serie di meccanismi:

- un aumento della quantità di ossigeno trasportato dal sangue conseguente alla contrazione della milza e quindi all'aumento del numero di globuli rossi. Questo favorisce una maggiore capacità di estrazione dell'ossigeno da parte del muscolo scheletrico grazie anche all'incremento della differenza artero-venosa che aumenta del

23% rispetto ai valori di riposo (Evans e Rose, 1988; Rose et al, 1990; Stevenson et al, 1994; Kearns et al, 2002).

- una re-distribuzione del flusso ematico a favore del muscolo che passa da un 15% ad un 80% della perfusione totale in corso di esercizio intenso (Poole et al, 2004).
- un aumento della quantità di sangue immessa in circolo dal cuore, legato più che alla gittata sistolica (la quantità di ossigeno che un cavallo può immettere in circolo durante la sistole raggiunge, nei cavalli migliori, i valori di 0.66-0.76 ml O₂/kg/battito) (Harris, 1998), soprattutto alle elevate frequenze cardiache che il cavallo può raggiungere durante un esercizio massimale (per un galoppatore allenato anche 240-250 bat/min) (Harris, 1998).
- un'augmentata estrazione di ossigeno dai tessuti. La captazione di ossigeno aumenta in modo lineare al crescere dell'intensità dell'esercizio fino ad un certo punto, oltre il quale non si ha un ulteriore incremento nonostante l'aumento dell'intensità dell'esercizio. Questo valore viene indicato come il massimo flusso di ossigeno che può essere fornito all'organismo e che questo è in grado di utilizzare come fonte aerobica per la produzione di energia (VO_{2max}).

2.2. VO_{2max}

La determinazione della capacità aerobica (VO_2 ; volume di O_2 utilizzato) è un fattore importante per valutare le potenzialità atletiche di un cavallo. Il suo aumento è correlato linearmente con quello dell'intensità dell'esercizio, fino al raggiungimento di un plateau in corrispondenza del quale ulteriori aumenti d'intensità non producono un aumento del VO_2 . Tale plateau è noto come VO_{2max} o massimo consumo di ossigeno (maximal oxygen uptake) (Harris, 1998). La VO_{2max} è equivalente alla massima quantità di ossigeno che può essere utilizzata nell'unità di tempo da un individuo ed è indicato come un rapporto ml/Kg/min. Il VO_{2max} può essere misurato direttamente mediante l'impiego di attrezzature sofisticate e costose che richiedono personale altamente specializzato (Kearns et al, 2002; Rose et al, 1990), oppure può essere determinato attraverso metodiche indirette. Queste ultime metodiche sfruttano la correlazione tra il VO_{2max} e la HR_{max} , ovvero la massima frequenza cardiaca (Evans, 2000).

L'importanza della stima di questo parametro è facilmente comprensibile nel caso in cui si voglia paragonare la reale capacità atletica di due cavalli sottoposti ad un esercizio di uguale intensità: l'esercizio verrà eseguito dai due soggetti in modo differente, raggiungendo percentuali del proprio VO_{2max} differenti sulla base delle caratteristiche genetiche oltre che del livello di allenamento; in pratica soggetti dotati di un alto valore di VO_{2max} sono in grado di sostenere, a parità di tempo, esercizi di intensità più elevata, o, a pari intensità, esercizi di più lunga durata rispetto a soggetti caratterizzati da VO_{2max} inferiori. L'allenamento può determinare un aumento del VO_{2max} del 10-20% e un innalzamento della soglia anaerobica, aumentando così la capacità di utilizzare fonti aerobiche per la produzione di energia (Evans, 2000). Per valutare la performance di un cavallo non ci si basa sull'intensità dell'esercizio richiesto, ma sulla capacità atletica dimostrata ad una certa percentuale di VO_{2max} stimata utilizzando il dosaggio dei gas

respiratori mediante spirometria. I valori ottenuti dai diversi studi hanno dimostrato
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

l'assoluta superiorità del cavallo atleta rispetto alle altre specie esaminate proprio per il suo potenziale aerobico (Evans and Rose, 1988; Rose et al, 1988). Purosangue allenati raggiungono valori di VO_{2max} pari a 160 ml/Kg/min (circa 40 volte il valore a riposo, pari a valori di circa 4ml/Kg/min), mentre nei migliori atleti umani si raggiungono valori di 69-85 ml/Kg/min, e nel cane valori di 100 ml Kg/min (Hodgson, 1994b).

Capacità aerobica (VO_{2max}) in alcune razze equine.	
I valori sono indicati come $\bar{x} \pm ES$	
Razza	VO_{2max} (ml/Kg/min)
Thoroughbred	133±10; 1358±5.9; 154±3
Standardbred	143.9±10.7; 151±2; 164.9±4.3
Arab	129±2.5
Pony	107.8±12.8
Donkey	110±2

Tabella presa da Hinchcliff et al, 2004

2.3. FREQUENZA CARDIACA

Durante l'esercizio, il sistema cardiovascolare è responsabile sia del trasporto delle fonti energetiche e dell'ossigeno verso i muscoli sia dell'allontanamento dell'anidride carbonica e dei lattati prodotti durante la contrazione. Senza questa importante funzione il sistema muscolo-scheletrico non sarebbe in grado di funzionare adeguatamente. Poiché il flusso di eiezione sistolica non cambia in modo significativo con l'aumento dell'intensità dell'esercizio (Harris, 1998), la quota di sangue portata ai tessuti è ampiamente regolata dal numero di volte che il cuore si contrae in un minuto (**frequenza cardiaca**). Nel cavallo la **frequenza cardiaca (HR) a riposo** si aggira intorno ai 20-40 battiti al minuto. Le sue variazioni durante l'esercizio sono considerate un buon indicatore del "carico di lavoro cardiovascolare" e sono correlate con il consumo di ossigeno (Eaton et al, 1995). Alcuni autori hanno osservato che la frequenza cardiaca che si registra durante l'esercizio sembra influenzata dal sesso del cavallo (i maschi avrebbero una capacità aerobica superiore alle femmine e quindi frequenze cardiache più basse a parità di esercizio), mentre non viene alterata dal peso di fantini fino a 90 Kg (Mukai et al, 2003). Inoltre esiste una stretta relazione tra la HR e l'intensità dell'esercizio (Foreman et al, 1990; Munoz et al, 1999b): all'aumentare della velocità aumenta anche la HR, ma raggiunta una determinata velocità (o intensità) si raggiunge un plateau di HR chiamato **frequenza cardiaca massima** (HR_{max}), che nei cavalli può variare da 210 a 240 battiti al minuto (Evans e Rose, 1988). La HR_{max} rappresenta il valore della frequenza cardiaca al quale l'aumentata intensità (o velocità) dello sforzo fisico non provoca un ulteriore aumento della stessa: rappresenta cioè il numero massimo di volte che il cuore può contrarsi in un minuto. Diversi studi hanno dimostrato che l'allenamento non influisce né sulla HR a riposo né sulla HR_{max} , ma può favorire un aumento dell'intensità di lavoro alla quale viene raggiunta la HR_{max} (Harris, 1998). Il suo valore può cambiare solo con l'età (Freeman D). La HR_{max} è considerata

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

una “danger zone” alla quale potrebbero comparire rapidamente segni di affaticamento ed esaurimento (Freeman D). Un'altra importante soglia, che viene definita in campo sportivo, è la **frequenza cardiaca alla soglia anaerobica**, che corrisponde mediamente a 150-170 battiti/minuto. Le frequenze cardiache al di sotto di tale soglia caratterizzano un gran numero di esercizi eseguiti mediante l'utilizzo della via aerobica di produzione energetica, e la concentrazione di lattato ematico non si discosta dal valore a riposo fin quando la HR non oltrepassa tale soglia (Caola, 2001). Quando l'intensità o la durata dell'esercizio aumentano, anche le richieste del sistema cardiovascolare aumentano determinando un aumento della HR. Le frequenze cardiache al di sopra della soglia anaerobica caratterizzano quella quota di metabolismo che eccede la capacità della via aerobica di fornire energia. Le HR di 170 battiti al minuto o superiori caratterizzano vari tipi di metabolismo anaerobico, che utilizzano il glucosio e il glicogeno come carburante energetico. La soglia anaerobica è influenzata dalle caratteristiche genetiche dei soggetti (Freeman D). Un metodo per valutare la capacità cardiovascolare di un cavallo è quello di valutare la sua V_{200} , cioè la velocità di esercizio alla quale la HR raggiunge valori di 200 battiti/minuto, frequenza alla quale molti cavalli sono prossimi alla soglia del lattato. I soggetti che hanno le migliori capacità cardiovascolare e metabolica hanno valori di V_{200} più elevati, cioè i cavalli migliori raggiungono una frequenza cardiaca di 200 battiti al minuti a velocità superiori rispetto ai cavalli con capacità di esercizio più basse. La V_{200} può essere migliorata con l'allenamento e può essere utile per monitorare cambiamenti nel fitness. I migliori cavalli da corsa purosangue possono avere una V_{200} di 8-9 m/sec in esercizi effettuati su treadmill con inclinazioni del 10%. Un altro metodo per misurare la capacità cardiovascolare è la velocità alla quale un cavallo raggiunge la sua HR_{max} , nota come V_{HRmax} . Questo valore si correla con la VO_{2max} (Harris, 1998).

In cavalli da corsa e da endurance, il **recupero dell'HR** è considerato indice di fitness e, nell'endurance è un indicatore sensibile del livello metabolico, dello stress e dell'affaticamento (Foreman et al, 1990; Munoz et al, 2006). Un mancato recupero della frequenza cardiaca dopo l'esercizio è indicativo di esaurimento, ed è spesso dovuto a mancanza di fitness o di allenamento adeguato (Munoz et al, 2006). Inoltre può essere dovuto ad un esercizio che eccede le capacità fisiche dell'atleta, a debolezza o a dolore (Foreman and Lawrence, 1991; Pollitt, 1993). Secondo il regolamento nazionale delle gare di endurance imposto dalla F.I.S.E., i cavalli che superano frequenze cardiache di 56-64 battiti/minuto durante il controllo ai cancelli veterinari, vengono squalificati dalla gara.

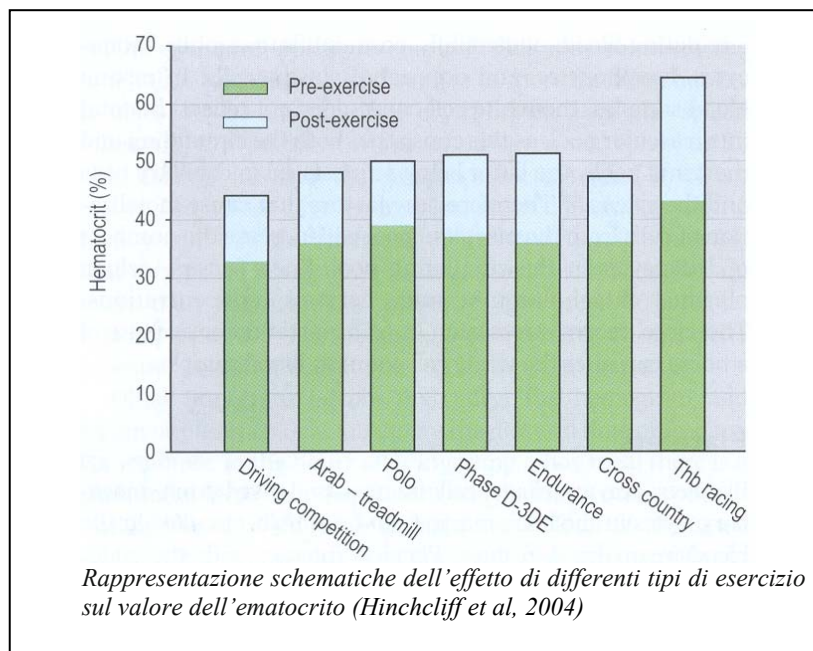
2.4. ALTERAZIONI EMATOLOGICHE DURANTE L'ESERCIZIO

I cavalli sono considerati super atleti e molti fattori fisiologici contribuiscono a tale capacità atletica. La VO_{2max} , è circa il doppio di quella dell'uomo atleta. Questa capacità aerobica è resa possibile grazie ad una grande capacità circolatoria che ha mostrato di essere positivamente correlata con le performance dell'esercizio (Persson, 1967; Persson, 1983). Inoltre, in questa specie durante l'esercizio, il muscolo è in grado di quadruplicare la sua capacità di estrarre l'ossigeno dal sangue. Questo aumento è reso possibile dalla deviazione a destra della curva di dissociazione del complesso ossigeno-emoglobina favorito dallo stato di acidosi, dall'aumento della temperatura all'interno delle masse muscolari e dall'aumento dei livelli di 2,3-DPG (Rivero et al, 2004). I cambiamenti cardiovascolari legati all'esercizio sono mediati dalle catecolamine e il reclutamento del sistema nervoso simpatico causa la **contrazione della milza**. Il cavallo è la specie più sensibile all'effetto adrenergico sulla contrattilità della milza (Hanzawa e Watanabe, 2000) che funge da importante riserva di sangue, essendo in grado di immagazzinare fino al 50% del pool totale di RBC, con un rilascio all'occorrenza di 4-12 litri di sangue ricco in globuli rossi nel torrente circolatorio (Persson, 1967; Persson e Lydin, 1973; Carlson, 1987; McKeever et al, 1993a; McKeever et al, 1993b; McKeever & Hinchcliff, 1995; Piccione et al, 2007). Questo viene provocato da una contrazione della capsula e delle trabecole favorita da situazioni di asfissia, emorragie, eccitamento ed esercizio (Persson, 1967). Di conseguenza, si assiste ad un aumento parallelo del volume di sangue totale, del volume plasmatico circolante, dell'ematocrito (PCV), della concentrazione emoglobinica (Hgb) e del numero totale di globuli rossi (RBC). Questi adattamenti inducono un aumento della capacità di trasporto di ossigeno da parte del sangue verso i tessuti, e quindi un incremento della capacità aerobica dell'animale (Persson, 1967; Muñoz et al, 1999b; Kearns et al, 2002). Studi su cavalli

splenectomizzati hanno mostrato una riduzione delle capacità atletiche dell'animale
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 17

(Persson, 1973; Persson, 1983). L'eritrocitosi da contrazione splenica non è accompagnata da un aumento significativo delle proteine plasmatiche e se il cavallo viene defaticato in un ambiente non stressogeno, l'Hct ritorna ai valori normali nel giro di qualche ora (Harris, 1998). Snow et al (1983) hanno osservato come l'eccitamento che precede un esercizio possa provocare già un'iniziale contrazione splenica nei cavalli da corsa. Gli stessi incrementi dei parametri eritrocitari possono essere provocati dal prelievo di sangue, in base al tipo di manualità e al temperamento dell'animale. Per questi motivi sarebbe opportuno eseguire i prelievi precedenti all'esercizio in un momento di tranquillità e lontano dalla competizione sportiva.

I cambiamenti ematologici associati all'esercizio sono stati spesso analizzati su varie tipologie di cavallo, sia sul campo che in treadmill, come purosangue inglesi (Rose et al, 1983), trottatori americani (Persson, 1967; Persson, 1983), eventers (Andrews et al, 1995; Muñoz et al, 1999a), cavalli da penthalon (Balogh et al, 2001), cavalli da polo (Craig et al, 1985; Adeyefa et al, 1987), show jumpers (Art et al, 1990) e cavalli da endurance (Grosskopf et al, 1983; Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, 1991b; Muñoz et al, 2006). Secondo questi lavori, l'aumento del numero dei globuli rossi, dell'emoglobina e dell'Hct varia in base all'intensità e alla durata dell'esercizio che determina il grado di contrazione splenica, che a sua volta dipende dal fabbisogno di ossigeno necessario per l'attività muscolare (Persson, 1967; Muñoz et al, 1999a). L'ematocrito può subire incrementi fino al 60-65% in funzione, oltre che dell'intensità e durata della prestazione atletica, anche dell'età e della razza del cavallo (Kingstone, 2004).



L'esercizio induce anche alterazioni del contenuto di acqua nel plasma, a causa di cambiamenti della pressione ematica con spostamenti di fluido tra i compartimenti intra ed extra cellulare e/o perdita di acqua o elettroliti in seguito all'evaporazione del sudore per il controllo della temperatura interna. Le **modificazioni del contenuto di acqua nel sangue** determinano anch'essi il grado di aumento dei RBC, Hgb e Hct durante l'esercizio (McKeever et al, 1993; Muñoz et al, 1999a; Muñoz et al, 1999b; Scott et al, 1999; McCutcheon and Geor, 2000). Per questo motivo è importante distinguere la policitemia relativa alla contrazione splenica da quella indotta da movimentazione o perdita di liquidi mediante la valutazione delle proteine plasmatiche. Gli aumenti della concentrazione sierica delle proteine totali dopo l'esercizio fisico possono essere legate all'emoconcentrazione dovuta alla disidratazione o allo scambio di fluidi tra i liquidi extracellulari e intracellulari ma non alla contrazione splenica (Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, 1991b). Per questo motivo, l'aumento della concentrazione delle proteine totali durante l'esercizio viene utilizzato come indicatore

di variazione del volume plasmatico (Naylor et al, 1993; Schott et al, 1997; Munoz et al, 2003), anche se questa ipotesi risulta un po' problematica poiché le TP potrebbero variare anche per perdita dal letto vascolare o, meno frequentemente, per ridotta produzione. Se da un lato l'aumento dell'ematocrito negli esercizi ad alta velocità è attribuibile per la maggior parte alla contrazione splenica, negli esercizi di resistenza, come l'endurance, la sostanziale perdita di fluidi assume un ruolo molto più importante (McKeever et al, 1993a).

Mentre le informazioni riguardanti le alterazioni del numero di globuli rossi, dell'ematocrito e della concentrazione emoglobinica indotte dall'esercizio sono numerose e ormai ben chiarite, i cambiamenti riguardanti le dimensioni e il contenuto emoglobinico degli eritrociti, non sono ancora ben definiti, con risultati e informazioni contrastanti a seconda degli autori: Boucher et al (1981) documentano una riduzione dell'MCV e del MCH con aumento dell'MCHC in cavalli da endurance; Smith et al (1989) descrivono un aumento dell'MCV e una riduzione dell'MCH e dell'MCHC in esercizi su treadmill ad alta velocità; in cavalli purosangue inglese che correvano su treadmill durante un esercizio con incremento della velocità sopra i 13 m/s Geor et al (1994) hanno descritto un aumento significativo dell'MCV e della concentrazione di K e di Cl all'interno dei RBC, suggerendo che la variazione volumetrica dei globuli rossi fosse una conseguenza del rigonfiamento cellulare attribuibile all'incremento di K e Cl intraeritrocitario proveniente dal plasma; Munoz et al (1996) su cavalli andalusi sottoposti ad un esercizio di intensità crescente su treadmill descrive un andamento altalenante di tutti gli indici eritrocitari. Più recentemente Pellegrini-Masini et al (2000) descrivono un aumento dell'MCV e una riduzione dell'MCHC in esercizi su treadmill ad intensità crescente in cavalli avelignesi; infine altri autori non hanno riscontrato alcuna variazione significativa (McClay et al, 1992). Diverse speculazioni sono state

fatte per cercare di capire la causa responsabile di tali variazioni osservate. Eritrociti più
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di
benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università
degli Studi Sassari 20

piccoli e spiculati (echinociti) sono stati osservati dopo gare di endurance (Boucher et al, 1981). Si è ipotizzato che gli echinociti potessero essere eritrociti vecchi immagazzinati nella milza e rilasciati in circolo in seguito a contrazione splenica. Le condizioni ipossiche e stagnanti all'interno della milza favorirebbero la deplezione dell'ATP dalle cellule e la formazione di echinociti. A causa della loro ridotta deformabilità, gli echinociti potrebbero incrementare la viscosità ematica, particolarmente nel circolo capillare, riducendo l'ossigenazione dei tessuti e predisponendo a condizioni patologiche come l'EIPH (emorragia polmonare indotta dall'esercizio) (Boucher, 1987). Tuttavia gli studi effettuati da Smith et al (1989) sulle modificazioni ematologiche indotte da esercizi brevi ad alte velocità hanno mostrato variazioni opposte con aumenti dell'MCV e decrementi dell'MCH e dell'MCHC. Gli eritrociti risultavano di forma normale, osmoticamente resistenti e le loro caratteristiche di deformabilità non sembravano essere influenzate dalla quota di eritrociti rilasciati dalla milza. Alcuni autori hanno osservato una correlazione tra il tipo di variazione volumetrica dei globuli rossi e l'intensità dell'esercizio fisico, e hanno ipotizzato che le modificazioni volumetriche potessero essere il risultato di spostamenti di acqua e ioni tra i compartimenti intra ed extra cellulari (Hanzawa et al, 1995). È stato possibile riprodurre i cambiamenti degli indici eritrocitari associati all'esercizio creando in vitro un ambiente dove il sodio, potassio e il pH venivano portati ai valori tipicamente riscontrati nelle gare di galoppo (Weiss and Evanson 1997). Gli indici eritrocitari sono stati studiati anche mettendo a confronto gli effetti dell'esercizio e l'iniezione di adrenalina, allo scopo di studiare il coinvolgimento della milza nelle alterazioni eritrocitarie. In tale studio non si sono avute variazioni significative a seguito di iniezione di adrenalina, mentre il volume eritrocitario è risultato aumentato dopo l'esercizio, a dimostrazione del fatto che la milza non sarebbe implicata nella variazione

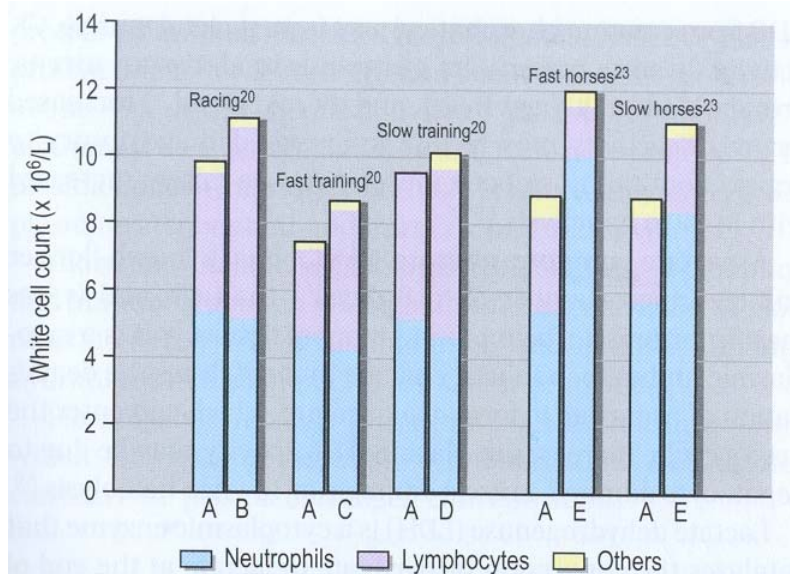
dell'MCV (Snow and Martin, 1990). Weiss et al (1992) hanno osservato una
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di
benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università
degli Studi Sassari

correlazione tra la comparsa di echinociti e la riduzione del Na sierico provocati dalla somministrazione di furosemide effettuata con lo scopo di simulare uno stato di disidratazione come quello indotto da esercizio. Pellegrini-Masini et al (2000) hanno osservato che in cavalli sottoposti ad esercizi submassimali l'aumento del PCV, dell'RBC e dell'Hgb dovuto alla spremitura della milza avveniva dopo due minuti dall'inizio dello sforzo, mentre l'aumento significativo dell'MCV, accompagnato da una riduzione dell'MCHC e dall'assenza di una variazione dell'MCH, compariva solo dopo sei minuti. Con questo risultato anche questi autori escludevano un coinvolgimento della milza nella liberazione di eritrociti di dimensioni ridotte, e ipotizzavano una responsabilità da parte delle variazioni elettrolitiche plasmatiche e di conseguenza di variazioni elettrolitiche intraeritrocitarie (aumento del cloro e del potassio intracellulare). Queste ultime causerebbero un rigonfiamento cellulare (\uparrow MCV) legato al richiamo passivo di acqua, confermato da una riduzione della concentrazione emoglobinica corpuscolare media (\downarrow MCHC) e da un valore invariato del contenuto emoglobinico corpuscolare totale (MCH). Numerosi sono i meccanismi di trasporto del Na, K e Cl descritti per gli eritrociti. I principali sono rappresentati da: cotrasporto di Na-K-2Cl, pompa ATPasi Na-K, canale per il K attivato dal Ca, cotrasporto K-Cl, canale dello ione Cl, scambio Cl-bicarbonato. Infine Munoz et al (2008) concludono dicendo che, benché il volume eritrocitario subisca indubbiamente dei cambiamenti durante l'esercizio, questi cambiamenti sembrerebbero correlati esclusivamente con la concentrazione plasmatica di Na.

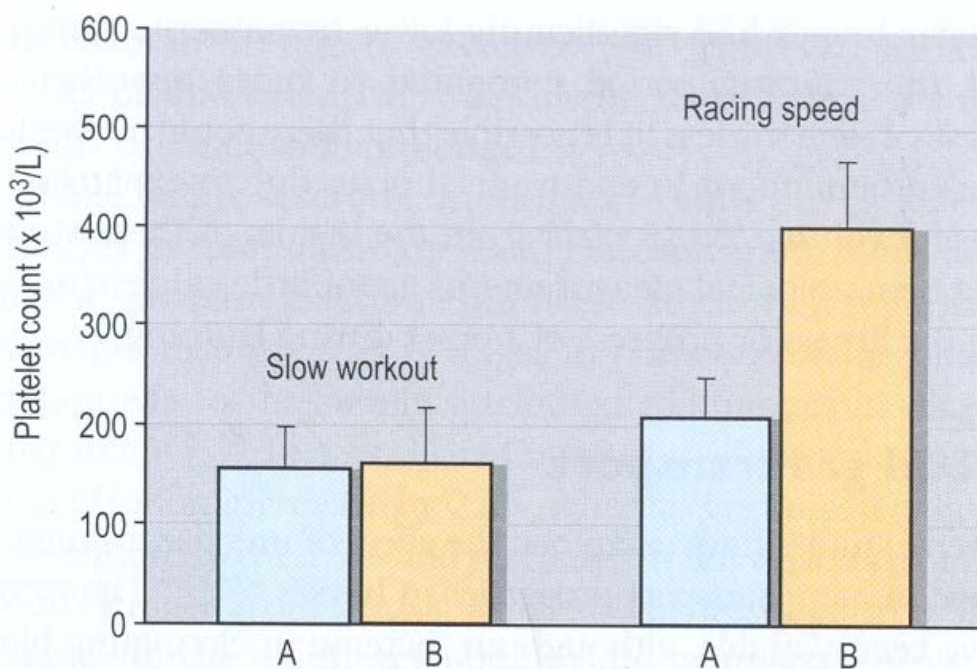
Le variazioni ematologiche indotte dall'esercizio riguardano, oltre la componente eritrocitaria, anche i globuli bianchi. La risposta leucocitaria allo stress è stata valutata da Osbaldiston e Johnson (1972) iniettando l'ormone ACTH a cinque cavalli. I risultati ottenuti mostrarono una temporanea leucocitosi con neutrofilia e linfopenia. L'esercizio

è considerato un fattore di stress in cavalli da performance e produce questa tipica risposta leucocitaria (Schalm et al, 1975). Nei cavalli sottoposti ad esercizio lento ma prolungato (es: endurance) è stata riportata una leucocitosi neutrofilica prolungata con aumento dei livelli di cortisolo plasmatico (Carlson, 1975; Dybdal et al, 1980; Rose, 1982, Snow et al, 1982), mentre nei cavalli sottoposti ad esercizio breve ma veloce è stata osservata una leucocitosi neutrofilica di più breve durata (Archer e Miller, 1959; Steel e Whitloch, 1960; Catling, 1978; Rosedale et al, 1982). Catlin (1978) e Rosedale (1982) hanno osservato un significativo aumento transitorio della conta linfocitaria immediatamente successiva all'esercizio con una neutrofilia che si è poi sviluppata 1.5 h o 3 h dopo. Questo tipo di risposta che ha determinato una riduzione iniziale del rapporto N/L seguito da un successivo aumento potrebbe essere spiegato con il fatto che la contrazione della milza indotta dalle catecolamine all'inizio dell'esercizio riversa nel sangue periferico non solo eritrociti ma anche leucociti, e poiché quest'organo è soprattutto una riserva di linfociti, la leucocitosi dovrebbe essere a carico prevalentemente dei linfociti (Snow, 1983a), mentre in un secondo momento prevale l'effetto del cortisolo che provoca una neutrofilia e una linfopenia. Il cortisolo determina inoltre una ridotta migrazione dei neutrofili dal letto vascolare e stimola la loro produzione nel midollo osseo. Sei ore dopo l'esercizio il rapporto N/L ritorna ai livelli normali (Snow 1983a).

Come per gli eritrociti, l'esercizio ha anche un effetto positivo sul numero delle piastrine variabile in base all'intensità. Infatti a velocità elevate corrispondono aumenti significativi del numero delle piastrine mentre quando l'esercizio è moderato il loro numero può rimanere invariato. Dati discordanti riguardano l'effetto dell'esercizio sulla loro attivazione e aggregabilità. Non ci sono dati riguardanti la relazione tra numero di piastrine e la durata dell'esercizio, l'età e la razza del cavallo (Bayly et al, 1983; Johnstone et al, 1991; Lopherd, 1977).



Rappresentazione schematica dell'effetto di differenti tipi di esercizio sul numero di leucociti. Dati ottenuti da Snow et al (1983) e Rose (1982). A: a riposo; B: immediatamente dopo una corsa di galoppo; C: immediatamente dopo un esercizio veloce (13m/s); D: immediatamente dopo un esercizio lento (11-12 m/s); E: immediatamente dopo una gara di endurance di 160 Km.



Rappresentazione schematica dell'effetto dell'esercizio sul numero di piastrine. Dati ottenuti da Johnstone et al (1991) e Bayly et al (1983). A: prima dell'esercizio; B: dopo l'esercizio

2.5. APPARATO MUSCOLARE E METABOLISMO ENERGETICO

Le fibre muscolari del cavallo vengono classificate in base all'esistenza di diverse isoforme di miosina in grado di influire sulla velocità di contrazione del muscolo e sul tipo di metabolismo energetico utilizzato. Le **fibre di tipo 1** si contraggono lentamente, vengono idealmente reclutate per esercizi di resistenza e sono in grado di sostenere una contrazione tetanica per periodi di tempo prolungati senza comparsa di affaticamento. Sono abbondantemente rappresentate nei muscoli posturali. La loro elevata capacità ossidativa è dovuta alla presenza di un numero elevato di mitocondri per unità di volume e necessitano di notevoli quantitativi di glucosio, acidi grassi liberi e ossigeno per la contrazione (MacLeay, 2004). Queste fibre possiedono le maggiori riserve di lipidi, la maggior densità di capillari, le più basse riserve di glicogeno e la più bassa capacità degli enzimi implicati nella glicolisi. Le fibre muscolari a contrazione rapida, dette **fibre di tipo 2**, maggiormente rappresentate nei muscoli scheletrici destinati alla locomozione e ai movimenti fini come i muscoli oculari, nel cavallo sono distinte in fibre di **tipo 2A e 2B**. Queste ultime hanno la più alta velocità contrattile, la maggiore area di sezione trasversa, il più alto contenuto in glicogeno, la più alta capacità glicolitica e la più bassa capacità ossidativa. Idealmente vengono reclutate per i consumi di energia rapidi e potenti. Le fibre di tipo 2A hanno caratteristiche contrattili e proprietà metaboliche intermedie tra le fibre di tipo 1 e 2B. Molti muscoli nel cavallo contengono un misto dei vari tipi di fibre, ma la loro percentuale varia in base al gruppo muscolare, alla razza e a variazioni individuali. Queste percentuali non sono costanti, ma possono variare nel tempo con l'allenamento. I muscoli locomotori con funzione propulsiva, come i glutei, contengono una prevalenza di fibre di tipo 2 a contrazione rapida con un contenuto di fibre di tipo 1 concentrate nella parte profonda della massa muscolare. I Quarter horses e i purosangue inglese hanno la più alta percentuale di fibre a contrazione rapida (80-90%), gli American Trotters un numero intermedio (75%),

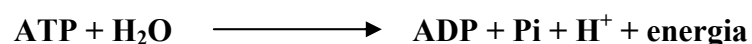
mentre gli asini hanno il minor contenuto di fibre di tipo 2 nei muscoli locomotori. L'allenamento può determinare, oltre che variazioni della lunghezza, della larghezza e della proporzione dei vari tipi di fibre, un aumento delle loro capacità ossidative grazie ad una diminuzione dell'utilizzo di glicogeno e glucosio come substrati energetici, un relativo aumento dell'utilizzo dei grassi e, di conseguenza una diminuzione della produzione di acido lattico (Hodgson, 1985, Snow e Valberg, 1994).

La contrazione del muscolo durante l'esercizio fisico ha inizio mediante il reclutamento di un numero limitato di fibre, necessario per dare la potenza di avanzamento alle zampe. Per esercizi di intensità leggera vengono stimulate le fibre di tipo 1 e un piccolo numero di fibre di tipo 2A. Se la velocità e la durata dell'esercizio aumentano, il reclutamento coinvolge un numero maggiore di fibre, seguendo un ordine di attivazione in base alla loro velocità contrattile. Solo al raggiungimento di intensità prossime all'esercizio massimale o dopo diverse ore di esercizio submassimale, vengono attivate anche le fibre di tipo 2B.

	<i>Tipo 1</i>	<i>Tipo 2A</i>	<i>Tipo 2B</i>
Velocità di contrazione	Lento	Veloce	Molto veloce
Fatica	Bassa	Intermedia	Alta
Capacità ossidativa (aerobica)	Alta	Intermedia	Bassa
Capacità glicolitica (anaerobica)	Bassa	Alta	Alta
Contenuto di glicogeno	Bassa	Alta	Alta
Contenuto di acidi grassi)	alta	Intermedia	Alta

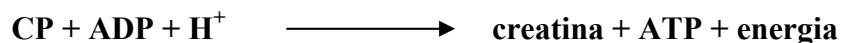
Proprietà delle fibre muscolari nel cavallo non allenato

La fonte di energia necessaria per la contrazione muscolare è rappresentata dal legame fosfato contenuto nella molecola di ATP (adenosintrifosfato). Quando questo legame viene scisso, vengono prodotti ADP, fosfato inorganico ed energia necessaria per le funzioni cellulari.



Durante la contrazione muscolare, l'ATP viene utilizzato sia per attivare il sistema actina-miosina, sia per attivare le pompe di trasporto ionico presenti nella membrana cellulare e nel reticolo sarcoplasmatico. La produzione di ATP nel muscolo può avvenire attraverso diverse vie metaboliche come la glicogenolisi, la glicolisi, il ciclo di Krebs, la fosforilazione ossidativa, l'ossidazione degli acidi grassi liberi (FFA), la catena di trasporto degli elettroni e il ciclo dei nucleosidi purinici. Un gran numero di fattori interdipendenti sembrano influenzare la via metabolica utilizzata nel cavallo durante l'esercizio. Questi includono la velocità e la durata dell'esercizio, la vascolarizzazione capillare, nonché la capacità ossidativa e glicolitica delle fibre muscolari, la disponibilità di ossigeno e dei differenti substrati energetici.

Il cavallo possiede una riserva molto piccola di ATP all'interno dei suoi muscoli. Questa riserva, insieme con la riserva di creatina fosfato (CP) viene consumata velocemente entro pochi secondi dall'inizio di un esercizio. La reazione che coinvolge la CP è la seguente:



Questi processi, detti dei fosfageni, sono conosciuti come **metabolismo anaerobico lattacido**, poiché non necessitano di apporto di ossigeno per svolgersi, e non danno luogo alla produzione di acido lattico. Dato che i substrati necessari sono già nel muscolo e la reazione a cui sono sottoposti è molto veloce, questo metabolismo ha per punti di forza la velocità di avvio e l'energia erogata nell'unità di tempo, ma decisamente pecca per la sua esigua autonomia. Contestualmente ad esso, al fine comune di risintetizzare nuovo ATP, operano altri due metabolismi: quello aerobico e quello anaerobico lattacido (Hodgson, 1985, Snow e Valberg, 1994; MacLeay, 2004).

All'inizio di un esercizio submassimale, quando l'ossigeno è abbondante, la produzione
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

di energia dipende largamente dalla degradazione del glicogeno attraverso la via del **metabolismo aerobico**. In pochi minuti la concentrazione ematica di glucosio e di acidi grassi liberi tende ad aumentare. Una volta raggiunto un consumo pari al 20-30% delle riserve di glicogeno, vi è un aumento della β -ossidazione degli FFA (Pösö et al, 2004). Il metabolismo aerobico è quindi la via primaria, ma non l'unica, attraverso la quale l'ATP viene rigenerato negli esercizi di endurance. Con il metabolismo aerobico i grassi e i carboidrati vengono ossidati con produzione di ATP, anidride carbonica e acqua. I maggiori depositi di glicogeno si trovano nel fegato e nel muscolo. Fino all'8% del peso del fegato e 1-2% del peso dei muscoli è rappresentato da glicogeno. La stimolazione del sistema nervoso simpatico, che avviene nell'esercizio, genera un aumento dei livelli circolanti di epinefrina e glucagone. Questi enzimi attivano l'enzima fosforilasi che scinde il glicogeno in molecole di glucosio fosfato. Il fegato e il muscolo passano dalla glicogenosintesi alla glicogenolisi per fornire glucosio libero. Quando questo processo avviene nel fegato, il glucosio viene riversato nel torrente circolatorio. Le cellule muscolari ottengono il glucosio sia dal torrente circolatorio sia dal glicogeno immagazzinato nei muscoli. I grassi rappresentano un'altra fonte ricca di energia. Gli FFA rilasciati dal tessuto adiposo o dal fegato possono essere captati dal muscolo e bruciati per via aerobica, ma piccole riserve intracellulari di trigliceridi sono presenti anche nelle fibre muscolari di tipo 1 e 2A. La mobilizzazione degli FFA è lenta e il loro contributo come substrato per il metabolismo aerobico aumenta con la durata dell'esercizio. Le vie aerobiche come il ciclo di Krebs, l'ossidazione degli FFA e la catena di trasporto degli elettroni avvengono all'interno dei mitocondri e provvedono ad una quantità di ATP per la cellula fino a quando l'ossigeno è disponibile (Hodgson, 1985, Snow e Valberg, 1994; MacLeay, 2004). Potenziali fattori limitanti sono rappresentati anche dalle funzioni cardio-respiratorie, dalla concentrazione

emoglobinica del sangue, dal tempo di transito del sangue nei muscoli e dalla capillarizzazione, dalla concentrazione mioglobinica e dal numero dei mitocondri presenti nel muscolo (Booth e Thomason 1991). L'allenamento agendo, fra le altre cose, sulla densità dei mitocondri all'interno della cellula muscolare e sul loro corredo enzimatico, è in grado di aumentare la quantità di ossigeno disponibile nei muscoli e quindi di aumentare la capacità dell'animale di produrre energia aerobica. L'efficienza della via mitocondriale è dimostrata dalla capacità di generare 38 molecole di ATP dall'ossidazione di una molecola di glucosio e fino a 146 molecole di ATP da una molecola di FFA.

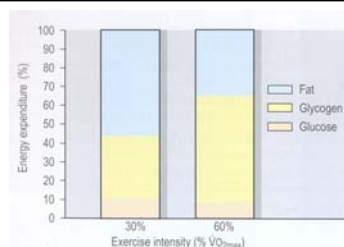
Alle velocità di esercizio submassimali, l'ossigeno è prontamente utilizzabile e vengono reclutate sia le fibre a contrazione lenta che quelle a contrazione veloce con alta capacità ossidativa. Le riserve intramuscolari di ATP e di creatina fosfato vengono utilizzate rapidamente e l'energia viene fornita sia dalla via glicolitica che da quella ossidativa. Una riduzione del rapporto ATP:ADP+P attiva la glicolisi e l'ATP per la contrazione viene fornito dalla trasformazione del glicogeno a piruvato. Il piruvato viene convertito ad acetyl-CoA nel mitocondrio e viene completamente ossidato tramite il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni. La quota di substrati provenienti dal torrente circolatorio (glucosio e acidi grassi liberi) disponibili per l'ossidazione aumentano entro i primi 15 minuti dell'esercizio insieme all'aumento del cortisolo. Un aumento della fosforilazione ossidativa determina un'inibizione della fosfofruttochinasi e una diminuzione dell'ossidazione del glucosio in favore della beta ossidazione degli FFA. Il grado di utilizzazione del glicogeno muscolare declina col tempo e aumenta l'ossidazione degli FFA. Il metabolismo ossidativo è altamente efficiente: produce molte più molecole di ATP per substrato (glucosio o FFA) rispetto alla glicolisi, senza alterare il pH. Utilizzando gli FFA le riserve intramuscolari di glicogeno vengono

risparmiate. L'affaticamento durante un esercizio submassimale compare quando si ha

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 29

la combinazione di questi fattori: deplezione delle riserve muscolari di glicogeno, temperatura muscolare marcatamente aumentata, alterazione della concentrazione elettrolitica, fatica neuromuscolare. La quantità di acido lattico che si forma in corso di esercizio submassimale è molto bassa (Hodgson, 1985, Snow e Valberg, 1994; MacLeay, 2004). Benché in qualsiasi tipo di esercizio, vi sia una piccola quota di metabolismo anaerobico, alle velocità submassimali la maggior parte di energia viene prodotta dal metabolismo aerobico (Eaton, 1994).

Se la velocità dell'esercizio aumenta, aumenta anche la richiesta energetica a livello muscolare. Molte più fibre vengono coinvolte, comprese quelle di tipo 2B, e viene consumato più ossigeno fino a quando non si raggiunge una velocità in corrispondenza della quale la disponibilità di ossigeno o la capacità di utilizzare i processi ossidativi diventa limitante. Una volta raggiunto il massimo volume di ossigeno consumato per minuto (VO_{2max}) l'energia necessaria per l'esercizio potrà essere fornita solo dalla glicolisi anaerobica o dalla deaminazione dell'ATP. Il **metabolismo anaerobico** è rappresentato da quelle reazioni biochimiche necessarie per la resintesi dell'ATP che non richiedono ossigeno. Durante esercizi di intensità elevata e di breve durata (2-3 minuti nel cavallo), la degradazione del glicogeno muscolare a lattato è la via principale per fornire ATP. Contrariamente al metabolismo aerobico, l'ossidazione degli acidi grassi liberi è poco utilizzata come fonte di carburante energetico (Pösö et al, 2004).



Rappresentazione schematica del contributo energetico fornito da lipidi, glucosio plasmatico e glicogeno muscolare durante un esercizio effettuato da un cavallo ad una percentuale del 30% e 60% della VO_{2max} (Hinchcliff et al, 2004: adattato da Geor et al, 2000).

La conversione del piruvato a lattato determina l'ossidazione del NADH a NAD⁺ facilitando la glicolisi. Grazie al loro alto contenuto in enzimi glicolitici e alla limitata capacità di attuare una fosforilazione ossidativa, le fibre di tipo 2B vengono reclutate per la glicolisi anaerobica. Con il reclutamento delle fibre 2B alle velocità che superano il punto di "maximal oxygen uptake" (VO_{2max}) compare un aumento esponenziale del lattato ematico. Il vantaggio della glicolisi anaerobica è la capacità di fornire un rapido apporto di ATP senza richiesta di ossigeno. Il consumo delle riserve di glicogeno non rappresenta un fattore limitante per l'esercizio massimale poiché la glicolisi anaerobica viene inibita dall'acidosi lattica prima che venga consumato tutto il glicogeno muscolare. L'abbassamento del pH a livello muscolare causato dall'accumulo di lattato e di ioni idrogeno inibiscono l'enzima fosfofruttochinasi che rappresenta lo step limitante nella glicolisi. Il pH muscolare può scendere anche a valori di 6,4 determinando un'inibizione della glicolisi e della eccitazione-contrazione. La capacità di tamponare o di rimuovere gli ioni idrogeno diventa molto importante per la funzione del muscolo durante un esercizio massimale. Il tamponamento degli ioni idrogeno è determinato da proteine e dipeptidi come la carnosina. La diffusione e il trasporto attivo del lattato nel circolo generale, nel quale il bicarbonato funge da principale tampone, sono molto importanti per il pH muscolare. La quota di acido lattico presente in circolo in seguito ad un esercizio è in parte direttamente correlata alla velocità dello stesso e in parte alla percentuale di fibre di tipo 2B nel muscolo. Alle massime velocità, la cellula ricorre al suo ultimo meccanismo di produzione di energia. L'ADP in eccesso presente nella cellula viene convertito in ATP+AMP in un processo chiamato reazione della miokinasi. Quando si raggiungono bassi valori di pH nel muscolo l'enzima AMP deaminasi viene attivato e questo deamina l'AMP in IMP (inosina monofosfato), NH³⁺

e Pi per catalizzare la produzione di ATP a partire dall'ADP. In altri termini, si produce

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 31

ATP per la contrazione muscolare da un eccesso di ADP. I livelli di ammoniaca plasmatici iniziano ad aumentare ad una soglia superiore a quella di accumulo dell'acido lattico e si correlano fortemente con l'esaurimento dell'ATP all'interno delle cellule muscolari. Prima che le riserve di ADP e ATP si possano ricostituire, l'IMP deve essere riaminato. Questa reazione di riaminazione dell'IMP in ADP e ATP ha luogo in 30-60 minuti. L'esaurimento delle riserve di ATP all'interno delle fibre muscolari determina l'affaticamento. Le fibre deplete possono sviluppare una contrattura dolorosa importante e ridurre le capacità del cavallo di mantenere una velocità massima (Hodgson, 1985, Snow e Valberg, 1994; MacLeay, 2004).

È stato osservato che un allenamento di endurance cambia il profilo contrattile e metabolico dei muscoli scheletrici. Un breve periodo di allenamento è in grado di modificare il corredo mitocondriale e quindi aumentare la capacità degli enzimi ossidativi. Dopo sei mesi il rapporto tra fibre 2A:2B aumenta, l'area di sezione trasversale delle fibre 2B diminuisce e aumenta la vascolarizzazione di tutte le fibre. Questi cambiamenti portano ad un miglioramento nell'utilizzo dell'ossigeno e dei substrati provenienti dal sangue, la rapida attivazione del metabolismo ossidativo e l'utilizzazione degli FFA nelle fibre muscolari. Con allenamenti ad alta intensità, la velocità alla quale il cavallo comincia ad accumulare lattati dovrebbe gradualmente aumentare riducendo l'inizio dell'accumulo del lattato e la deplezione dell'ATP. Questo è accompagnato da un aumento della capacità ossidativa (dall'aumento del volume mitocondriale) e della vascolarizzazione di tutte le fibre muscolari. I muscoli e il sangue del cavallo, in particolare nei soggetti allenati, hanno importanti proprietà che permettono di aumentare la loro tollerabilità nei confronti dell'acido lattico, la cui formazione è indispensabile per ottenere massime performance. Il muscolo ha un'elevata capacità di tamponare l'acidità generata dall'acido lattico, e i globuli rossi

contribuiscono ad aumentare la capacità anaerobica del cavallo (McCutcheon et al, 1987; Pösö et al, 1995). L'accumulo di acido lattico nel muscolo dà l'avvio ad una cascata di eventi che possono portare ad uno stato di affaticamento per cui la regolazione della sua concentrazione durante l'esercizio gioca un ruolo importante nella funzione muscolare (Pösö, 2002). Per prima cosa, determina un aumento della pressione osmotica all'interno della cellula con conseguente ingresso di acqua e aumento di volume (Kingston e Bayly, 1998). Quest'ultimo rappresenta il maggior regolatore della funzione e del metabolismo cellulare poiché un suo aumento ha un effetto inibitorio sulla degradazione del glicogeno necessaria per la produzione di energia (Lang et al, 1998). Inoltre all'interno della cellula l'acido lattico si trova nella sua forma dissociata, e sia lo ione lattato che il protone (H^+) hanno un importante effetto sul metabolismo cellulare. L'acidificazione, infatti, riduce la funzione delle pompe e dei canali del Calcio presenti nella membrana del reticolo sarcoplasmatico aumentando così il tempo di rilassamento dei sarcomeri muscolari. I protoni sono invece responsabili della conformazione dell'ATPasi miosinica necessaria per la contrazione. Inoltre i protoni rallentano la produzione di energia poiché inibiscono l'attività della fosfofruttochinasi, enzima limitante della glicolisi, e la fosforilazione del glicogeno (Fitts, 1994; Hyyppä e Pösö, 1998). L'anione lattato ha un effetto inibitorio sulla funzione del sarcomero. Come conseguenza di tutti questi eventi, il muscolo lavorerà in maniera meno efficiente, ovvero sarà affaticato. Vari meccanismi, che coinvolgono bicarbonato, proteine, fosfati e carnosina, sono coinvolti nel prevenire l'acidificazione cellulare e le sue conseguenze. Tuttavia anche se la capacità tampone nei cavalli allenati è 50% più alta rispetto all'uomo atleta (Fox et al, 1987; McCutcheon et al, 1987; Sewell et al, 1991), non è sufficiente per prevenire l'acidificazione, così dopo un esercizio intenso il pH muscolare può arrivare a valori di 6.5-6.4 (Lovell et al, 1987; Harris et al, 1989; Juel, 1997).

Per evitare l'acidificazione e ritardare la comparsa di affaticamento l'acido lattico, sia nella forma dissociata che nella forma indissociata, passa dal muscolo agli spazi interstiziali e quindi al sangue. Il lattato viene trasportato dal plasma all'interno dei globuli rossi, cuore, fegato e altri tessuti dell'organismo. Nel cavallo la sua concentrazione all'interno dei RBC è molto variabile ed è stata messa in relazione con le performance atletiche dei soggetti. Infatti è stato osservato che in un gruppo di American Trotters, i cavalli con le migliori performance erano quelli con il maggior contenuto di lattato nei RBC (Pösö et al, 1995; Räsänen et al, 1995). L'allenamento può influire sulla concentrazione ematica del lattato perché è in grado di potenziare la capacità ossidativa del muscolo aumentando il numero di mitocondri all'interno della cellula e favorendo l'allontanamento del lattato mediante l'incremento del numero delle proteine di membrana deputate al suo trasporto verso l'esterno. Infine migliora la sua captazione ad opera di vari tessuti favorendone la clearance (Donovan e Brooks, 1983; Pagliassotti e Donovan, 1990; Phillips et al, 1995). Tutti questi elementi devono essere presi in considerazione quando si vuole utilizzare il lattato come indicatore di performance nell'esercizio. Ma allora cosa ci può dire la sua concentrazione ematica a riguardo? Prima di tutto è risaputo che i cavalli allenati hanno una maggiore capacità aerobica e durante un lavoro ad alta intensità producono meno lattato di un cavallo non adeguatamente allenato (Persson, 1983; Snow e MacKenzie, 1977). Nelle corse di galoppo i cavalli utilizzano la loro capacità anaerobica e in tal caso la valutazione della concentrazione di lattato non è un buon indicatore di performance. Per due cavalli che lavorano ad una massima intensità, uno con un valore ematico di lattato più alto dell'altro, ci sono troppi fattori che rimangono ancora da chiarire. Un cavallo ha un basso valore di lattato ematico perché è ancora concentrato all'interno del muscolo, a causa della bassa attività dei sistemi di trasporto del muscolo, perché possiede un'alta

attività del sistema enzimatico glicolitico? Le fibre reclutate in un determinato esercizio sono sempre le stesse in diversi individui? I loro muscoli hanno diversa capacità tamponante nei confronti dell'acidità, e i cavalli tollerano lo stesso grado di acidità? La clearance del lattato attraverso fegato e altri tessuti può mostrare variazioni individuali? In definitiva, il dato più importante riguardante il lattato, non è la sua concentrazione ematica, ma la quota presente nel muscolo. Un allenamento di 2-3 anni di cavalli purosangue inglese e trottatori effettuato in Scandinavia ha mostrato un aumento della percentuale di fibre 2A e una riduzione della sezione trasversa delle fibre 2B. Benché un aumento della capacità ossidativa dovrebbe essere metabolicamente vantaggioso, una riduzione della percentuale di fibre 2B e una riduzione della loro sezione trasversa potrebbe anche determinare una diminuzione della loro velocità e forza di contrazione: perché un cavallo da corsa possa ottenere delle buone performance, il muscolo deve avere la capacità di utilizzare energia attraverso la via anaerobica della glicolisi. È ovvio che è necessario un equilibrio tra le proprietà metaboliche e contrattili del muscolo scheletrico per ottenere un'ottima velocità e resistenza. Poiché la composizione delle fibre muscolari e le loro proprietà metaboliche variano molto tra cavalli, il raggiungimento di questo equilibrio potrebbe essere diverso per ogni cavallo (Hodgson, 1985; Snow e Valberg, 1994).

2.6. ACCUMULO DI LATTATO DURANTE L'ESERCIZIO

In condizioni di riposo la concentrazione ematica di lattato nei cavalli è pari a circa 0.5 mmol/L. Al termine di un esercizio la sua concentrazione continua ad aumentare raggiungendo il picco ematico dopo circa 2-10 minuti. Il lattato rappresenta ancora una buona fonte energetica e, mentre durante l'esercizio viene utilizzato soprattutto dal fegato per produrre glucosio, dal cuore per produrre energia e in parte dalle fibre muscolari di tipo 1, dopo la fine dell'esercizio, durante la fase di defaticamento, viene ossidato dalle masse muscolari (Lovell et al, 1995). La quota di lattato rimossa dal

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

circolo dipende dallo stato metabolico del soggetto. A riposo la quota di energia necessaria è bassa, ma se durante questa fase il cavallo esegue un esercizio molto leggero, il consumo di ossigeno cresce e si assiste all'ossidazione dell'acido lattico. È stato osservato che dopo un allenamento su treadmill ad alta velocità, la vita media del lattato può ridursi del 50% se il cavallo viene sottoposto ad una fase di defaticamento al passo (Marlin et al, 1987; Hubbel et al, 1997).

In esercizi molto intensi, i cavalli devono utilizzare soprattutto la via anaerobica di produzione energetica accelerando il metabolismo anaerobico del glicogeno (glucosio immagazzinato nel muscolo). A velocità di esercizio superiori a quelle che determinano un metabolismo pari al 65-85% del VO_{2max} la quantità di lattato prodotto dai muscoli con la glicolisi anaerobica inizia ad aumentare, si diffonde nel torrente circolatorio e determina un aumento della sua concentrazione ematica (Evans et al, 1995, Eaton et al, 1995). E' possibile in corso di esercizio fisico, eseguendo il dosaggio del lattato ematico, stabilire qual' è il momento di passaggio tra una produzione di energia attraverso la via aerobica del metabolismo, e la produzione di energia anaerobica. Si può individuare questo punto di passaggio, definito **soglia anaerobica**, rilevando concentrazioni di lattato ematico uguali o superiori a 4 mmol/l. Da un punto di vista metabolico possiamo dire che, fino al raggiungimento di questa soglia, esiste un equilibrio tra la quota di lattato liberato dal muscolo nel torrente circolatorio e la quota utilizzata dai tessuti. Con il raggiungimento di questo valore ematico, venendo meno questo equilibrio il lattato ematico subisce una crescita esponenziale. Inoltre, tale valore corrisponde anche alla saturazione dei sistemi di trasporto del lattato dalla fibra muscolare allo spazio extracellulare risultante in un suo accumulo esponenziale all'interno della cellula (Pösö et al, 2004). Questo valore derivato sostanzialmente dalla medicina sportiva umana, è utilizzato anche per valutare la performance nel cavallo,

associandolo alla velocità alla quale si muove quando raggiunge la soglia anaerobica

(V_{La4}). Questa indica la velocità massima che il cavallo può raggiungere prima che i meccanismi di smaltimento dell'acido lattico siano sbilanciati. Un soggetto con soglia anaerobica elevata mostra una resistenza alla comparsa della fatica in quanto ha una maggiore capacità di trasporto ed utilizzo dell'ossigeno e sfrutta la produzione aerobica di energia ritardando l'accumulo di acido lattico nel sangue (Caola, 2001). Se da un lato la risposta del lattato ad un esercizio massimale non ha alcun significato nella valutazione del fitness del cavallo (un purosangue inglese dopo solo 400 metri di corsa al galoppo presenta incrementi di lattato da 1 mmol/l a più di 14 mmol/l (Pösö et al, 2004), in corso di esercizio moderato e submassimale l'utilizzo della V_{La4} , o altri indici simili, sono molto utili per distinguere performance più o meno buone e per monitorare il fitness durante gli allenamenti (Pösö et al, 2004).

È importante sottolineare che la produzione di lattato nelle cellule muscolari e il suo accumulo nel sangue è una risposta normale alla produzione di energia durante un esercizio ad alte velocità o intensità e la rapidità con cui inizia ad accumularsi nei muscoli e nel sangue dipende dall'andatura, dalla razza, dal soggetto, dalla dieta e dallo stato di allenamento. Al contrario concentrazioni elevate in soggetti a riposo indicano un'insufficiente irrorazione di organi e tessuti accompagnata da comparsa di sintomatologia algica. La misurazione della risposta del lattato durante un esercizio standardizzato può quindi fornire informazioni valide sul grado di produzione anaerobica di ATP per quel tipo di esercizio e in quelle condizioni standard (Evans, 2000). Durante esercizi massimali, a valori di lattato pari a 80 mmol/l nel muscolo e 12 mmol/l nel sangue corrisponde il valore soglia di accumulo dei prodotti di degradazione dell'ATP, quali l'ammoniaca, l'ipoxantina, l'acido urico e l'allantoina. Questi ultimi due sono particolarmente rappresentati nel cavallo. Il loro picco viene raggiunto circa 30 minuti dalla fine dell'esercizio (Pösö et al, 2004).

La determinazione del lattato va effettuata su plasma o sangue intero. I due risultati non possono essere confrontati poiché la concentrazione plasmatica può essere fino al 50% più alta rispetto a quella dei globuli rossi. (Rainger et al, 1995). Probabilmente la determinazione su sangue intero risulta più corretta perché include il lattato contenuto nei globuli rossi ed è più rapida perché non richiede centrifugazione del campione (Evans, 2000).

	Distance/time	Blood lactate (mmol/L)	Plasma lactate (mmol/L)
Endurance races	80–100 km	1.6 ± 0.1	0.50 ± 0.2
Standardbred races (trotting)	2100 m	21.6 ± 0.9	24.5 ± 0.7
Standardbred races (pacing)	1760–2160 m		20.9 ± 4.1
Thoroughbred races	1100–3800 m	29.6 ± 4.7	33 ± 1.9
Three-day event, cross-country	6200 m		19.1 ± 4.2
Showjumping			9.0 ± 0.9
Polo			9.2 ± 1.2
Donkey after exercise			10 ± 1.4

Concentrazioni massime di lattato dopo l'esercizio (i valori sono riferiti alle medie ± errore standard). Preso da Hinchcliff, 2004

2.7. CK, LDH, AST

Gli enzimi ritenuti più utili nel valutare il sistema muscolare del cavallo sono la creatin-kinasi (CK), l'aspartato aminotrasferasi (AST) e la lattico deidrogenasi (LDH).

La creatin-kinasi è un enzima citoplasmatico che catalizza sia la formazione di adenosina trifosfato (ATP) che la fosforilazione reversibile della creatinina, utilizzando l'ATP come donatore di fosfato. La sintesi di creatina fosfato è particolarmente importante nei tessuti muscolari, dove funziona da molecola di riserva energetica (Cardinet, 1997). La creatina fosfato è l'unica fonte di energia presente nel muscolo all'inizio dell'esercizio (Harris, 1998). Nel cavallo la CK si trova soprattutto nel muscolo scheletrico, nel miocardio e nel cervello, ma poiché il passaggio dell'enzima dal liquido cerebrospinale al plasma e viceversa è molto ridotto se non addirittura assente, il suo aumento plasmatico è legato esclusivamente a danni muscolari o cardiaci (Harris, 1998). È una molecola dimerica composta da due tipi di monomeri: M e B. I test che vengono eseguiti di routine misurano l'attività totale della CK, mentre gli isoenzimi possono essere quantificati solo tramite metodiche elettroforetiche o immunologiche. Nell'uomo esistono tre isoenzimi principali: l'isoenzima BB, localizzato prevalentemente nel cervello e nei tessuti epiteliali che difficilmente aumenta nel sangue in seguito ad insulti cerebrali, l'isoenzima MB maggiormente concentrato nel muscolo cardiaco e meno nel muscolo scheletrico e infine l'isoenzima MM, localizzato soprattutto nel muscolo scheletrico e meno nel muscolo cardiaco. Nel cavallo le informazioni riguardanti gli isoenzimi e la loro utilità diagnostica non sono state ancora del tutto chiarite. In uno studio è stata osservata una predominanza dell'isomero MM nel muscolo cardiaco e nel muscolo scheletrico, dell'isoforma BB nel cervello pancreas e reni e infine delle isoforme MB e BB nell'intestino (Harris, 1998).

Ciò a dimostrare che nel cavallo la ricerca degli isoenzimi non aiuta a discriminare le forme cardiache da quelle muscolari. La CK (80000 daltons), una volta rilasciata dalle

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

cellule muscolari, non entra direttamente nel torrente ematico, ma passa nel sistema linfatico attraverso il fluido interstiziale (Harris, 1998). La sua attività aumenta molto rapidamente raggiungendo il picco dopo 4-12 ore dall'insulto e ritorna a valori normali dopo circa 24-96 ore (Valberg et al, 1993). Poiché le cellule muscolari sono in grado di rilasciare quantità importanti di CK anche in assenza di lisi cellulare, non è corretto quantificare il danno muscolare in base alla sua attività sierica, che pur essendo una manifestazione del danno muscolare, non può essere considerata indicatore della gravità (Harris, 1998).

L'aspartato aminotrasferasi (AST) e la lattico deidrogenasi (LDH), contrariamente alla CK, non sono enzimi altamente specifici per il tessuto muscolare poiché si ritrovano in numerosi altri tessuti molli. L'AST catalizza il trasferimento dell'aminogruppo dall'L-glutammato all'ossalacetato o dall'L-aspartato all' α -chetoglutarato e, portando alla formazione di aspartato, fornisce una fonte di azoto per il ciclo dell'urea. Si trova principalmente nel muscolo, nel fegato e nel cuore, ma è stata localizzata anche in molti altri tessuti. Esistono due isoenzimi: MAST, localizzato nei mitocondri, e CAST, di origine citoplasmatica o sarcoplasmatica. L'LDH catalizza la conversione reversibile del lattato a piruvato, in presenza di NAD^+ , con formazione di $\text{NADH} + \text{H}^+$. Esistono cinque isoenzimi, differenziabili per via elettroforetica, utilizzabili per localizzare il danno nei vari tessuti: l'LDH5 si trova soprattutto nei muscoli locomotori, il fegato contiene soprattutto l'LDH3, il cuore contiene l'LDH1 e tutti sono stati trovati nei muscoli non deputati alla locomozione (Harris, 1998). L'allenamento sembra essere responsabile dell'aumento delle isoforme dalla LDH1 alla LDH4 e della diminuzione della LDH5. È importante sottolineare che il campione di sangue per la determinazione dell'LDH non deve essere emolitico, poiché questo enzima è presente anche all'interno dei globuli rossi. L'AST e l'LDH raggiungono il picco ematico dopo circa 24 ore

dall'insulto e hanno un'emivita plasmatica di circa sette giorni (Clarkson e Ebbeling, 1988; Harris, 1998).

Un aumento dell'attività plasmatica del CK, AST e LDH può essere provocato da diverse cause, tra cui l'alterazione della permeabilità della membrana, la necrosi cellulare, l'aumento della sintesi o la diminuzione della clearance dell'enzima. La maggior parte degli enzimi che aumentano nel sangue in corso di patologie muscolari sono a localizzazione citoplasmatica, benché si possa trovare anche la forma mitocondriale dell'AST soprattutto se l'insulto è stato particolarmente severo.

Un aumento della concentrazione ematica di CK, LDH ed AST è stato osservato anche in risposta all'esercizio fisico (Harris, 1998). Questo aumento è stato attribuito o ad un danno manifesto (Da Cás et al, 2000) o semplicemente ad una alterazione della permeabilità della membrana della cellula muscolare che fa seguito all'ipossia, alla liberazione di catecolamine, all'ipoglicemia, alle variazioni del pH e alle variazioni elettrolitiche che compaiono con l'esercizio (Anderson 1975; Boyd, 1985). Molti di questi cambiamenti sarebbero provocati dalla riduzione dell'ATP necessario per il mantenimento dell'integrità cellulare che diventa particolarmente importante nell'esercizio (Harris, 1998). Durante l'esercizio i valori plasmatici possono aumentare senza segni clinici o alterazioni istologiche della struttura muscolare (Valberg et al, 1993; Câmara e Silva et al, 2007). Volfinger et al (1994) hanno calcolato l'intensità del danno muscolare nel cavallo basata sul CK liberato dal muscolo scheletrico, e hanno osservato che solo valori di CK al di sopra di 10000 UI/L riflettevano un danno significativo. Il valore plasmatico di questi enzimi dipenderebbe largamente dall'intensità e dalla durata dell'esercizio, dal fitness dell'animale, dalle condizioni ambientali e dall'allenamento (Overgaard et al, 2004; Câmara E Silva et al, 2007). Il maggior problema nella valutazione del loro incremento in seguito ad un esercizio fisico

è quello di discriminare tra un aumento funzionale e fisiologico e un cambiamento

patologico (Munoz et al, 2002). Ciò è legato al fatto che i risultati raccolti finora in tal senso, sono stati ottenuti seguendo protocolli di studio molto diversi, valutando tipologie di esercizio di durata e intensità molto diverse e includendo spesso soggetti già affetti da problemi muscolari (Harris, 1998). Per discriminare tra un aumento fisiologico e una alterazione patologica degli enzimi muscolari, il clinico deve sicuramente prendere in considerazione non solo i dati di laboratorio ma anche la storia e la presentazione clinica del soggetto (Harris 1998).

2.8. SUDORAZIONE ED ELETTROLITI

Durante l'esercizio, il cavallo può produrre una quota elevata di calore metabolico, proporzionale all'intensità dell'esercizio svolto, che può incrementare la temperatura corporea dai 37°C a riposo ai 42°C nel giro di un minuto (McConaghy, 1994). Poiché il buon funzionamento cellulare richiede il mantenimento di un range di temperatura corporea estremamente ridotto, è fondamentale che il calore prodotto venga adeguatamente dissipato. In questa specie, la via principale per dissipare tale calore è rappresentata dall'evaporazione del sudore (65%), seguita dall'evaporazione attraverso la respirazione (25%) (Hodgson et al, 1994). Poiché il raffreddamento attraverso l'evaporazione del sudore è estremamente importante, il cavallo ha sviluppato un'elevata capacità di trasferire i fluidi dal compartimento vascolare alle ghiandole sudoripare e quindi all'esterno, attraverso la superficie cutanea (McConaghy, 1994). L'aumento della pressione idrostatica durante l'esercizio favorisce lo spostamento dei fluidi dal torrente sanguigno al compartimento extracellulare aumentando la disponibilità dei fluidi per la produzione di sudore (McKeever et al, 1993; McConaghy, 1994; McKeever et al, 1995). Inoltre, la struttura delle ghiandole sudoripare presenta un'organizzazione talmente elementare da semplificare l'escrezione del sudore prodotto (McCutcheon e Geor, 1998). Il sudore prodotto dal cavallo durante l'esercizio ha una composizione isotonica o ipertonica rispetto al plasma con valori di osmolalità compresi tra ~290 e 320 mosmol/kgH₂O (Kingstone et al, 1997; McCutcheon et al, 1996). In parte, la produzione di un sudore ipertonico può essere considerata vantaggiosa sia perché favorisce il movimento di una maggiore quantità di acqua verso l'esterno, sia perché abbassa il punto di evaporazione del sudore potenziando il raffreddamento corporeo. Quest'aspetto sopperisce al fatto che il cavallo ha un basso rapporto superficie/volume se confrontato con quello dell'uomo. Il limite legato a questo

adattamento fisiologico è rappresentato dalla potenziale perdita massiva di fluidi ed

elettroliti con conseguente disidratazione isosmotica o iposmotica (McKeever et al, 2004). Infatti, lavori recenti hanno riportato perdite di fluidi attraverso il sudore pari a 12 litri/h durante esercizi submassimali effettuati in condizioni ambientali caratterizzate da temperatura e umidità elevate, determinando importanti perdite di peso corporeo, di acqua totale e di volume plasmatico (McConaghy, 1994; Lindinger e Ecker, 1995; McCutcheon et al, 1995; Geor et al, 1996; McCutcheon e Geor, 1996; Kingstone et al, 1997; Geor et al, 1998; McCutcheon e Geor, 1998; Kingstone et al, 1999; McCutcheon et al, 1999; McCutcheon e Geor, 2000). Tutto ciò può portare ad una compromissione del ritorno venoso, della pressione di riempimento cardiaco, dell'output cardiaco e, di conseguenza, del sistema termoregolatore. Negli esercizi di lunga durata, le perdite attraverso la sudorazione possono portare a progressiva disidratazione, responsabile a sua volta di una riduzione del volume di sangue circolante e della gittata cardiaca. Inizialmente per mantenere efficiente l'output cardiaco, si assiste ad un aumento della frequenza cardiaca. Quando gli adattamenti cardiovascolari non sono più in grado di compensare il deficit del volume plasmatico, la disidratazione inizia a coinvolgere l'ambiente intracellulare determinando un'alterazione delle funzioni cellulari, un incremento della temperatura corporea, una riduzione delle performance e infine l'affaticamento (McConaghy, 1994). Gli esercizi di endurance, per i quali lo stato di disidratazione è la regola più che l'eccezione, possono portare ad un'elevata produzione di sudore con perdita drammatica di liquidi e incrementi gravi della temperatura corporea centrale. L'ipertermia che ne consegue porta a affaticamento, crampi, colpo di calore e altre patologie della termoregolazione. In ambienti caldi e umidi, anche cavalli ben idratati possono andare incontro a situazioni minacciose per la vita in poco tempo, che tuttavia possono essere evitate con buoni programmi di allenamento, una buona alimentazione e con adeguato rifornimento di acqua. Oltre a produrre un'importante

perdita di fluidi, la sudorazione è responsabile di sottrazione di elettroliti sia dal
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di
benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università
degli Studi Sassari 44

compartimento extracellulare che intracellulare (Carlson, 1983; Carlson, 1987; McConaghy, 1994; Lindinger e Ecker, 1995; McCutcheon et al, 1995; Geor et al, 1996; McCutcheon e Geor, 1996; Kingstone et al, 1997; Geor et al, 1998; McCutcheon e Geor, 1998; Kingstone et al, 1999; McCutcheon et al, 1999; McCutcheon e Geor, 2000).

Come per tutte le altre specie animali, il corpo del cavallo è composto per la maggior parte (circa il 50-70%) da acqua ed elettroliti compartimentalizzati in un liquido intracellulare ed extracellulare. I due terzi sono contenuti all'interno delle cellule, mentre un terzo in ambiente extracellulare, costituito dallo spazio vascolare, interstiziale, linfatico e dal contenuto del tratto gastroenterico (Carlson, 1983). La **normale funzione cellulare** è strettamente legata al mantenimento della quantità e della distribuzione dei fluidi, della concentrazione degli elettroliti e dell'equilibrio acido basico di questi compartimenti. Mentre il sodio è il catione più abbondante nello spazio extracellulare e fornisce il maggior contributo al mantenimento dell'osmolalità plasmatica all'interno del range fisiologico, il potassio è il catione più rappresentato in ambiente intracellulare. Altri importanti elettroliti in sede intracellulare sono il calcio e il magnesio. I principali anioni dell'organismo sono rappresentati dal cloro, dal bicarbonato e dai fosfati. Tutti gli elettroliti contribuiscono al mantenimento della concentrazione osmotica dei fluidi corporei all'interno di un range ristretto, fondamentale per evitare rigonfiamento o disidratazione cellulare (Carlson, 1987; Greenleaf e Morimoto, 1996; Harrison, 1985; Wade et al, 1989). Durante l'esercizio il cavallo può perdere una quota così elevata di sudore tale da determinare una variazione importante del volume e della composizione dei fluidi corporei in grado di compromettere la funzione cellulare. La quantità di sudore prodotta può essere più o meno abbondante a seconda del tipo di competizione sportiva. È stato osservato che i

cavalli da endurance possono arrivare a perdere anche il 15% totale di acqua, Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 45

accompagnata da perdita di Na con conseguente severa disidratazione. Per cercare di evitare gli effetti legati alle grosse perdite di fluidi ed elettroliti, diversi sistemi sono implicati nel mantenimento dell'osmolalità plasmatica, incluso il sistema cardiovascolare, nervoso, endocrino e renale.

Quando si considera l'esercizio, il calcio contenuto all'interno del reticolo sarcoplasmatico delle fibre muscolari gioca un ruolo fondamentale nel processo della contrazione. Durante l'esercizio si assiste allo spostamento del calcio all'interno della cellula muscolare per favorire la contrazione, essendo il calcio implicato, insieme alla troponina, nella formazione del legame tra actina e miosina (Rose et al, 1983b). La concentrazione totale di calcio plasmatico è costituita da una frazione ionizzata, una frazione complessata e una legata alle proteine. La concentrazione della frazione ionizzata, che è la forma fisiologicamente attiva e rappresenta il 50-60% della concentrazione totale in un cavallo a riposo, può modificarsi senza una concomitante variazione della concentrazione totale. Tutti i lavori riguardanti le variazioni elettrolitiche legate all'esercizio, tra cui l'endurance, lo Show Jumping, il Three Day Combined Training, la fase di Cross Country di una competizione di Driving Trial (Snow, 1990; Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, 1991b; Flaminio e Rush, 1998; White SL, 1998; Aguilera-Tejero, 2000; Santo et al, 2001) hanno registrato riduzione del calcio plasmatico. Sono state formulate varie ipotesi per spiegare la riduzione del calcio ionizzato in seguito alle varie tipologie di esercizio, tra cui l'escrezione attraverso la sudorazione, la sua captazione all'interno delle cellule muscolari in attività, il suo passaggio all'interno dei globuli rossi o l'aumento della quota di calcio legata alle proteine o ad altre sostanze presenti nel plasma, come i lattati e i fosfati (Smith, 1985; White, 1998). La quota legata alle proteine, in particolare albumina, può essere influenzata dalla concentrazione delle proteine, dal pH e dalla

presenza di altre sostanze che competono per il legame proteico. L'acidosi prodotta
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 46

dagli esercizi intensi determina una riduzione della frazione legata e un aumento della forma ionizzata, mentre l'alcalosi metabolica può indurre un aumento della frazione legata (Hyypä, 1998; Flaminio, 1998). L'ipocalcemia si ripercuote sul funzionamento dei canali del Na presenti nelle cellule nervose e può esitare nella comparsa di irritabilità nervosa e di contrazioni muscolari involontarie (Deldar et al, 1982).

Il magnesio è un importante cofattore in molte reazioni metaboliche dell'organismo. Le concentrazioni di magnesio possono decrescere o rimanere invariato durante l'esercizio fisico. La disidratazione può ostacolare l'interpretazione dei risultati. La concentrazione di Mg nel sudore (4.6 mmol/L) è più alta rispetto al plasma (0.8 mmol/L) e le sue perdite col sudore possono provocare stati di ipomagnesemia. L'ipomagnesemia aumenta il rilascio di acetilcolina dalle giunzioni neuromuscolari determinando spasmi muscolari.

Per quanto riguarda i fosfati, molti lavori su varie tipologie di esercizio, come la corsa, l'endurance e il Three Day Combined Training, hanno rivelato un aumento della loro concentrazione ematica (Deldar et al, 1982; Hyypä e Pösö, 1998; White SL, 1998; Santo et al, 2001), mentre altri lavori fatti sullo Show Jumping e sulla fase di Cross Country di una competizione di Driving Trial non hanno osservato alterazioni significative (Snow, 1990; Aguilera-Tejero, 2000). Per quanto riguarda i lavori sul polo, mentre Adeyefa et al (1987) non hanno osservato variazioni significative, Craig et al (1985) hanno registrato una riduzione. Gli autori che hanno registrato un aumento hanno ipotizzato che questo possa essere dovuto all'utilizzo dell'ATP necessario per produrre l'energia per la contrazione muscolare (Rose, R.J 1977; Krzywanek, 1996; Mundt, V.E. (1986).

Composizione elettrolitica (mEq/L) di plasma, fluido interstiziale, fluido intracellulare e sudore (preso da McKeever, 2004)

Elettroliti	Plasma	Fluido interstiziale	Cell. muscolare sch.	sudore
Cationi				
Na ⁺	140	143	10	120 (range 115-150)
K ⁺	4	4.1	142	35 (range 25-50)
Ca ²⁺ (ionizzato)	2.5	2.4	4	10 (range 3-20)
Mg ²⁺ (ionizzato)	1.1	1.1	34	5
Anioni				
Cl ⁻	100	113	4	150 (range 140-190)
HCO ₃ ⁻	25	28	12	
H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ²⁻	2	2	40	
Proteine	14	0	50	
Altro	7	7	84	

3. MATERIALE E METODI

Lo studio è stato eseguito durante la 3° edizione del Torneo Internazionale di polo che si è disputata in Sardegna, presso l'impianto del Centro Ippico Shergan in località Bucchi Toltu (Arzachena-Costa Smeralda) comune di Olbia, nei giorni 6-13 luglio 2008. La competizione sportiva ha visto coinvolte sei squadre divise in due gruppi (Tab. 1), e un gran numero di cavalli provenienti da diverse parti del mondo. Le partite, due o tre per giornata, sono state disputate nel tardo pomeriggio secondo il calendario descritto in Tab. 2. Le temperature ambientali, rilevate ogni giorno circa 30 minuti prima dell'inizio delle partite, oscillavano tra i 23°C e i 28°C con umidità relativa compresa tra il 23% e il 26%. A fine partite le temperature oscillavano tra i 18°C e i 22°C con umidità relativa compresa tra i 25% e il 26%, ad eccezione del 12 luglio in cui raggiungeva il 46% (Tab. 3). Per motivi pratici, economici e di disponibilità delle squadre partecipanti, lo studio ha coinvolto 12 cavalli appartenenti a 4 delle 6 squadre (Tab. 4). Le partite, svolte seguendo le regole internazionali del polo imposte dalla FISE, avevano la durata di 4 chukkers di 7 minuti ciascuno, e ogni cavallo è stato utilizzato per un solo chukker. Ogni squadra entrava in campo con da quattro cavalli. I cavalli, tutti di età adulta (con un'età superiore ai 4 anni), 12 femmine e un maschio, erano 11 pony da polo (incrocio tra criollo argentino e purosangue inglese) e uno di razza PSI. Ogni cavallo è stato sottoposto a visita clinica il giorno precedente l'inizio della competizione sportiva e quindi esaminato durante quattro giornate di gara. In ognuno di questi quattro giorni i soggetti scelti sono stati sottoposti a tre controlli seriali:

tempo T0: in box, prima dell'ingresso nel campo di gioco;

tempo T1: subito dopo l'uscita dal campo di gioco;

tempo T2: dopo trenta minuti di riposo.

Durante il riposo, il cavallo veniva lavato e portato al passo per circa 10 minuti.

Durante i tre controlli seriali, su ogni cavallo sono state esaminate le mucose apparenti, la frequenza cardiaca, il tempo di riempimento capillare, la sudorazione e la comparsa di segni di disidratazione. Lo stato delle mucose apparenti è stato definito secondo il criterio dei tre gradi utilizzato nelle gare di endurance, (A: normali, B: iperemiche, C: congeste) mentre la disidratazione, valutata mediante sollevamento della plica cutanea, è stata descritta con i numeri 1: assente, 2: lieve o 3: importante. È stato effettuato un prelievo di sangue venoso dalla giugulare e il campione di sangue è stato posto in provette con K₃EDTA per la determinazione dell'esame emocromocitometrico e in provette senza anticoagulante per la determinazione di un profilo biochimico comprendente i parametri CK, LDH, AST, lattati, proteine totali, Ca, Mg, P. Il campione in K₃EDTA è stato refrigerato a 4°C e analizzato entro 24 ore dal prelievo, mentre il campione senza anticoagulante è stato subito centrifugato e il siero è stato conservato a -20°C fino all'utilizzo. L'esame emocromocitometrico è stato eseguito mediante analizzatore automatico con tecnica citometrica a flusso laser della ditta Idexx Laboratoires. Per quanto riguarda i dati inerenti le cellule rosse del sangue, il contaglobuli utilizzato misura direttamente i valori RBC, Hgb, MCV ed RDW e calcola automaticamente i parametri Hct, MCH ed MCHC. Gli esami ematochimici sono stati eseguiti con l'analizzatore biochimico, a chimica secca, Vet Test della ditta Idexx Laboratoires.

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata utilizzando la proc mixed del SAS secondo due modelli. Nel primo la variabile di riferimento è stata analizzata considerando il tempo come effetto fisso e il cavallo come effetto random, nel secondo considerando come effetto fisso i giorni tenendo il cavallo sempre come effetto random. Ovvero, per ogni parametro sono state analizzate statisticamente le differenze esistenti tra i tempi T0, T1 e T2, indipendentemente dalla giornata di gara, per valutare i cambiamenti

immediati indotti dall'esercizio, e le differenze esistenti tra i tempi T0 del primo giorno

e dell'ultimo giorno, per valutare i cambiamenti eventualmente comparsi dopo diverse giornate di gara. Infine, tenuto conto dei tempi necessari per raggiungere il loro picco ematico, per i parametri biochimici AST, CK e LDH sono state analizzate statisticamente anche le differenze esistenti tra i vari tempi T0 delle quattro giornate.

Le difficoltà incontrate durante il prelievo dei campioni ematici, legate alla necessità di non disturbare la competizione sportiva, hanno impedito in alcuni casi la raccolta completa dei dati su ogni soggetto.







Gruppo A	Gruppo B
Julius Baer Polo Team 	Audi Polo Team 
Malo Polo Team 	Cala di Volpe Polo Team 
Web Eyewear Polo Team 	Jaeger LeCoultre Polo Team 

Tabella 1. Squadre partecipanti al torneo

Data	Ora		Match	Risultato
6 luglio	20:00	Qualificazione	Web Eyewear Polo Team vs Audi Polo Team	5 - 8
	21:30		Julius Baer Polo Team vs Cala di Volpe Polo Team	8 - 7,5
7 luglio	20:00	Qualificazione	Malo Polo Team vs Jaeger-LeCoultre Polo Team	8 - 8
	21:30		Cala di Volpe Polo Team vs Web Eyewear Polo Team	5 - 5,5
8 luglio	20:00	Qualificazione	Julius Baer Polo Team vs Jaeger-LeCoultre Polo Team	5 - 6
	21:30		Malo Polo Team vs Audi Polo Team	6 - 7
9 luglio	20:00	Qualificazione	Cala di Volpe Polo Team vs Malo Polo Team	4,5 - 8
	21:30		Audi Polo Team vs Julius Baer Polo Team	4 - 6
11 luglio	21:30	Qualificazione	Jaeger-LeCoultre Polo Team vs Web Eyewear Polo Team	8 - 8
12 luglio	19:00	Semifinale	Web Eyewear Polo Team vs Cala di Volpe Polo Team	11,5 - 8
	20:00		Julius Baer Polo Team vs Jaeger-LeCoultre Polo Team	10 - 7
	21:30		Audi Polo Team vs Malo Polo Team	8 - 7
13 luglio	17:15	Finale 3°-4°	Jaeger-LeCoultre vs Malo Polo Team	3 - 3
	18:30	Finale 1°-2°	Audi Polo Team vs Julius Baer Polo Team	8 - 9

Tabella 2. Calendario delle partite

località	data	ora	Temperatura Ambientale (°C)	Umidità relativa (%)	località	data	ora	Temperatura Ambientale (°C)	Umidità relativa (%)
Arzachena	06/07/2008	19.00	26,5	24	Arzachena	09/07/2008	20.00	19,0	25
Arzachena	06/07/2008	20.00	24,2	24	Arzachena	09/07/2008	21.00	18,0	25
Arzachena	06/07/2008	21.00	22,6	25	Arzachena	09/07/2008	22.00	18,3	26
Arzachena	06/07/2008	22.00	20,8	25	Arzachena	09/07/2008	23.00	19,6	25
Arzachena	07/07/2008	18.00	24,1	26	Arzachena	11/07/2008	18.00	28,2	22
Arzachena	07/07/2008	19.00	23,7	26	Arzachena	11/07/2008	19.00	24,7	24
Arzachena	07/07/2008	20.00	22,9	26	Arzachena	11/07/2008	20.00	22,6	25
Arzachena	07/07/2008	21.00	22,3	26	Arzachena	11/07/2008	21.00	20,7	25
Arzachena	07/07/2008	22.00	21,5	26	Arzachena	11/07/2008	22.00	20,4	26
Arzachena	07/07/2008	23.00	20,8	26	Arzachena	11/07/2008	23.00	20,2	26
Arzachena	08/07/2008	0.00	21,2	26	Arzachena	12/07/2008	18.00	28,2	24
Arzachena	08/07/2008	18.00	23,5	24	Arzachena	12/07/2008	19.00	25,2	25
Arzachena	08/07/2008	19.00	21,2	25	Arzachena	12/07/2008	20.00	24,5	28
Arzachena	08/07/2008	20.00	20,0	25	Arzachena	12/07/2008	21.00	23,1	39
Arzachena	08/07/2008	21.00	19,1	26	Arzachena	12/07/2008	22.00	21,9	46
Arzachena	08/07/2008	22.00	19,3	26	Arzachena	13/07/2008	16.00	25,0	24
Arzachena	08/07/2008	23.00	19,5	26	Arzachena	13/07/2008	17.00	24,6	25
Arzachena	09/07/2008	18.00	24,5	23	Arzachena	13/07/2008	18.00	23,3	25
Arzachena	09/07/2008	19.00	22,1	24	Arzachena	13/07/2008	19.00	21,6	26

Tabella 3: Temperatura e Umidità relativa registrate durante i giorni del torneo. Rilevazioni effettuate presso la stazione meteorologica di Arzachena. Dati forniti dal Consorzio S.A.R. SRL Servizio Agrometeorologico Regionale per la Sardegna, sede di Sassari.

Nome del cavallo	Team di appartenenza
1. Pantera	Audi
2. Milionaria	Audi
3. Fanfarone	Audi
4. Lola	Web Eyewear
5. Campari	Web Eyewear
6. Brasita	Cala di Volpe
7. Indigo	Cala di Volpe
8. Caprice	Cala di Volpe
9. Afrodite	Jaeger
10. Sacura	Jaeger
11. Pilar	Jaeger
12. Cagnita	Jaeger

Tabella 4. Elenco cavalli scelti

4. RISULTATI:

Tutti i risultati ottenuti per ogni cavallo sono rappresentati nella tabella 5, mentre nella tabella 6 sono indicati, per ogni parametro, il valore medio stimato, l'errore standard ai tempi T0 (prima della gara), T1 (subito dopo l'uscita dal campo) e T2 (30 minuti dopo l'uscita dal campo), e la relazione statistica tra i valori ottenuti ai tempi T0 e T1, T0 e T2, e T1 e T2 (valore p). Nella tabella 7 sono indicate le medie stimate, gli errori standard dei valori ottenuti al tempo T0 del primo e dell'ultimo giorno e la relazione statistica tra i risultati (valore p).

All'esame obiettivo generale effettuato nel box il giorno precedente all'inizio del torneo, tutti i cavalli scelti si presentavano in buone condizioni generali; solamente un cavallo (*Cagnita*) mostrava un leggero grado di disidratazione.

Nei giorni di gara, al tempo T0 tutti i cavalli mostravano mucose di colorito roseo (A), tempo di riempimento capillare (\bar{x} 1.0211 \pm 0.09710) e frequenza cardiaca (\bar{x} 34.6434 \pm 1.8320) nella norma. Un cavallo (*Campari*) ha mostrato un leggero stato di disidratazione al tempo T0 del secondo e del quarto giorno mentre un altro soggetto (*Cagnita*) ha mostrato una disidratazione di grado 2 al primo e al quarto giorno e di grado 3 al secondo giorno. Tutti gli altri soggetti non hanno presentato segni di disidratazione (\bar{x} 1.1510 \pm 0.1356). Un soggetto (*Lola*), ha presentato un valore delle AST superiore al range di riferimento al tempo T0 di tutti e quattro giorni di gara (1048 U/L, 1013 U/L, 405 U/L e 716 U/L rispettivamente) e delle CK e del Mg al tempo T0 del primo giorno (396 U/L e 1.61 mmol/L rispettivamente).

Al tempo T1, subito dopo l'uscita dal campo, è stata osservata nella maggior parte dei casi congestione più o meno grave delle mucose (B o C), segni di disidratazione (\bar{x} 1.7700 \pm 0.1311), con punteggi variabili da 1 a 3, allungamento del tempo di riempimento capillare (\bar{x} 1.9857 \pm 0.1007) e sudorazione. Al tempo T2 i segni di

congestione e di disidratazione (\bar{x} 1.5135 \pm 0.1282) apparivano in alcuni casi gli stessi del tempo T1 e in altri soggetti risultavano in via di risoluzione, ma mai si osservava un peggioramento rispetto al tempo T1. Il grado di sudorazione al tempo T2 non poteva essere valutato poiché i cavalli venivano lavati. I valori della frequenza cardiaca hanno subito variazioni altamente significative ($p < 0.001$) con valori al tempo T1 (\bar{x} 80.5631 \pm 1.9094) e T2 (\bar{x} 48.4358 \pm 1.8320) superiori rispetto al tempo T0 ma con i valori al tempo T2 inferiori rispetto al tempo T1. Il soggetto *Lola*, al tempo T1 del terzo giorno, ha mostrato un flutter diaframmatico sincrono, clinicamente accompagnato da mucose congeste (valore C), disidratazione (valore 2) con aumento delle proteine totali (da 6.4 a 7.2 g/dl) e allungamento del tempo di riempimento capillare (valore 2). La condizione è andata risolvendosi in breve tempo, mostrando al tempo T2 il ritorno dei valori all'interno dei range di riferimento fisiologici.

Per quanto riguarda i dati di laboratorio, l'analisi statistica ha permesso di osservare che la competizione sportiva ha determinato una variazione significativa di alcuni dei parametri presi in esame. In particolare, il numero totale di **globuli rossi**, **l'ematocrito** e la **concentrazione emoglobinica** hanno subito variazioni altamente significative ($P < 0.001$) con valori al tempo T1 (\bar{x}_{RBC-T1} 11.0542 \pm 0.2399; \bar{x}_{Hct-T1} 61.4961 \pm 1.2354; \bar{x}_{Hgb-T1} 19.3083 \pm 0.3805) e T2 (\bar{x}_{RBC-T2} 8.7775 \pm 0.2349; \bar{x}_{Hct-T2} 48.8549 \pm 1.1746; \bar{x}_{Hgb-T2} 15.5612 \pm 0.3728) superiori rispetto al tempo T0 (\bar{x}_{RBC-T0} 7.4009 \pm 0.2363; \bar{x}_{Hct-T0} 40.5710 \pm 1.2022; \bar{x}_{Hgb-T0} 13.2399 \pm 0.375), ma con i valori al tempo T2 sempre inferiori rispetto al tempo T1. Le caratteristiche morfologiche e tintoriali degli eritrociti, indicate dall'**MCV**, **MCHC** e dall'**MCH**, e l'**RDW** non hanno subito modificazioni significative tra i tempi T0, T1 e T2. La conta leucocitaria totale (**WBC**) ha mostrato un aumento significativo ($p < 0.05$) tra il tempo T0 (\bar{x}_{WBC-T0} 7.9684 \pm 0.4570) e il tempo T1 (\bar{x}_{WBC-T1} 9.7478 \pm 0.4676), ma l'unica classe cellulare a mostrare variazioni significative

è stata quella dei **linfociti**, che hanno mostrato un aumento altamente significativo tra T0 ($\bar{x}_{LYM-T0} 2.1702 \pm 0.1817$) e T1 ($\bar{x}_{LYM-T1} 3.2148 \pm 0.1886$) ($p < 0.001$) e una riduzione significativa tra T1 e T2 ($\bar{x}_{LYM-T2} 2.4495 \pm 0.1785$) ($p < 0.05$) mentre la conta differenziale dei **neutrofili**, degli **eosinofili**, dei **monociti** e dei **basofili** non ha subito variazioni significative. La conta piastrinica (**Plt**) e il piastrinocrito (**Pct**) hanno mostrato una diminuzione altamente significativa tra T0 ($\bar{x}_{Plt-T0} 79.1023 \pm 2.8092$; $\bar{x}_{Pct-T0} 0.06905 \pm 0.007350$) e T1 ($\bar{x}_{Plt-T1} 55.1981 \pm 2.8959$; $\bar{x}_{Pct-T1} 0.02750 \pm 0.007532$) ($p < 0.001$), ma mentre Plt ha presentato un aumento significativo ($p < 0.05$) tra i tempi T1 e T2 ($\bar{x}_{Plt-T2} 72.5167 \pm 2.7346$), il Pct ha mostrato una diminuzione significativa ($p < 0.05$) tra T0 e T2 ($\bar{x}_{Pct-T2} 0.04565 \pm 0.007023$). Non ci sono state differenze significative riguardanti le dimensioni (**MPV**) e la distribuzione piastrinica (**PDW**).

Tra i parametri biochimici analizzati, sono state osservate diminuzioni significative ($p < 0.05$) del **Ca** tra T0 ($\bar{x}_{Ca-T0} 11.5960 \pm 0.1311$) e T1 ($\bar{x}_{Ca-T1} 10.9258 \pm 0.1346$) e tra T0 e T2 ($\bar{x}_{Ca-T2} 11.1154 \pm 0.1314$) e altamente significative ($p < 0.001$) del **fosforo** tra T0 ($\bar{x}_{P-T0} 3.3636 \pm 0.1205$) e T2 ($\bar{x}_{P-T2} 2.3965 \pm 0.1209$) e tra T1 ($\bar{x}_{P-T1} 3.6271 \pm 0.1243$) e T2. Il **Mg** ha mostrato una diminuzione altamente significativa ($p < 0.001$) tra T0 ($\bar{x}_{Mg-T0} 1.6401 \pm 0.03026$) e T1 ($\bar{x}_{Mg-T1} 1.5573 \pm 0.03101$) e significativa ($p < 0.05$) tra T1 e T2 ($\bar{x}_{Mg-T2} 1.4158 \pm 0.03032$). Le proteine totali (**TP**) hanno mostrato un aumento altamente significativo ($p < 0.001$) tra il prelievo fatto a T0 ($\bar{x}_{TP-T0} 6.9221 \pm 0.09320$) e quello fatto a T1 ($\bar{x}_{TP-T1} 7.5444 \pm 0.09437$) e una diminuzione significativa tra T1 e T2 ($\bar{x}_{TP-T2} 7.1410 \pm 0.09326$). Infine sono stati osservati aumenti significativi ($p < 0.05$) dell'**LDH** tra T0 ($\bar{x}_{LDH-T0} 680.63 \pm 39.9105$) e T2 ($\bar{x}_{LDH-T2} 842.49 \pm 39.9371$) del **CK** tra T0 ($\bar{x}_{CK-T0} 144.38 \pm 19.1760$) e T1 ($\bar{x}_{CK-T1} 208.28 \pm 19.7655$) e tra T0 e T2 ($\bar{x}_{CK-T2} 201.42 \pm 19.2400$) e altamente significativi del **lattato** ($P < 0.001$). Per quest'ultimo i valori al tempo T1 ($\bar{x}_{lat-T1} 10.2402 \pm 0.3959$) e T2 ($\bar{x}_{lat-T2} 4.7929 \pm 0.3779$) sono risultati

superiori rispetto al tempo T0 ($\bar{x}_{\text{lat-T0}} 1.2093 \pm 0.3738$) ma con i valori al tempo T2 inferiori rispetto al tempo T1.

In particolare, il soggetto *Lola* ha presentato, durante tutti e quattro i giorni di gara, valori delle AST e del Mg al di fuori del range di riferimento sia al tempo T0 che ai tempi T1 e T2, e valori delle CK fuori dal range ai tempi T0, T1 e T2 della prima giornata. Il soggetto, al quarto giorno, è stato ritirato dal torneo.

L'analisi statistica dei dati di laboratorio (parametri dell'esame emocromocitometrico e profilo biochimico) ottenuti al tempo T0 del primo giorno e al tempo T0 dell'ultimo giorno di gara hanno mostrato un aumento significativo dell'Hct ($\bar{x} 37.7591 \pm 1.3638$ vs $\bar{x} 43.9304 \pm 1.3662$) e altamente significativo dell'MCV ($\bar{x} 50.8386 \pm 0.8921$ vs $\bar{x} 60.6668 \pm 0.8934$) accompagnati da una diminuzione significativa dell'MCH ($\bar{x} 19.4780 \pm 0.3857$ vs $\bar{x} 17.4470 \pm 0.3864$) e dell'MCHC ($\bar{x} 36.5338 \pm 0.9142$ vs $\bar{x} 28.7944 \pm 0.7011$) e altamente significativa dell'Hgb ($\bar{x} 14.4169 \pm 0.3848$ vs $\bar{x} 12.5217 \pm 0.3855$) e dell'RDW ($\bar{x} 18.9788 \pm 0.1217$ vs $\bar{x} 18.2469 \pm 0.1219$). Infine c'è stata una diminuzione altamente significativa dell'MPV ($\bar{x} 11.0558 \pm 0.6767$ vs $\bar{x} 6.6021 \pm 0.6503$) e significativa del PDW ($\bar{x} 18.9109 \pm 0.6037$ vs $\bar{x} 16.7534 \pm 0.5783$). Per i parametri CK, LDH e AST, non sono state osservate differenze significative tra i tempi T0 delle quattro giornate di gara.

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Pantera

team di appartenenza: AUDI razza: argentino sesso: FG età: soggetto adulto > 4 anni provenienza: Roma
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 40/min tempo di riempimento capillare: 1 sec

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:0			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 21:30		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
Mucose	A	C	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A
Frequenza cardiaca		72	52	36	72	56	44	80	68	44	98	48
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
Disidratazione	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
T. di riemp. Capillare	1	3	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2
RBC (6.80-12.90 M/μl)	9.35	12.72	10.00	9.00	10.55	9.24	8.22	11.81	9.31	8.58	12.61	10.05
HCT (32-53%)	44.4	61.7	48.3	44.5	55.3	47.5	44.8	63.8	50.8	51.8	75.8	60.2
HGB (11-19 g/dl)	16.2	21.1	18.3	14.1	18.0	15.5	13.8	20.1	17.1	13.8	19.9	15.9
MCV (37-58 fl)	47.5	48.5	48.3	49.4	52.4	51.3	54.5	54.0	54.6	60.4	60.1	59.9
MCH (12.30-19.90 pg)	17.35	16.60	18.35	15.69	17.08	16.73	16.75	16.98	18.34	16.11	15.79	15.80
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	36.5	34.2	38.0	31.7	32.6	32.6	30.7	31.5	33.6	26.7	26.3	26.4
RDW (17-21%)	19.3	19.6	19.0	18.1	18.5	18.4	18.7	18.6	18.3	18.1	18.4	18.2
WBC (5.40-14.30 K/μl)	10.17	10.81	8.43	7.71	12.35	9.95	11.50	12.53	8.12	8.03	11.61	8.06
NEU (2.26-8.50 K/μl)	6.56	6.65	5.15	5.38	9.00	7.45	7.82	6.61	4.65	5.25	7.53	5.67
LYM (1.50-7.70 K/μl)	2.82	3.47	2.65	1.71	2.75	2.06	2.88	5.28	3.07	2.24	3.56	1.98

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0.40	0.37	0.33	0.36	0.38	0.27	0.62	0.42	0.25	0.30	0.27	0.20
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0.36	0.27	0.29	0.23	0.17	0.14	0.13	0.14	0.12	0.22	0.20	0.19
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0.04	0.06	0.02	0.04	0.05	0.03	0.06	0.08	0.04	0.03	0.06	0.02
PLT (90-350 K/μl)	87	76	60	99	46	63	44	41	55	66	56	59
MPV	8.79	7.76	9.29	5.89	5.88	5.67	5.31	5.17	5.45	5.86	5.73	5.11
PDW	16.9	16.1	17.1	16.8	15.7	15.6	15.3	15.1	15.5	15.4	15.6	14.5
PCT	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11.3	11.2	11.1	12.0	10.9	14.4	11.7	11.3	12.2	10.9	10.9	10.7
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3.6	4.4	2.2	3.5	3.0	2.3	2.2	3.6	1.8	3.6	3.8	2.0
TP (5.6-7.9 g/dl)	6.8	7.8	7.2	7.3	7.4	7.3	7.3	8.1	7.6	6.9	7.8	7.0
AST (100-600 U/L)	575	696	760	318	682	714	744	720	878	659	767	790
LDH (250-2070 U/L)	744	997	1191	632	948	1109	694	1105	1474	663	937	797
CK (10-350 U/L)	85	158	168	90	112	135	79	172	213	103	157	149
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1.50	1.53	1.25	1.61	1.30	1.24	1.58	1.55	1.38	1.77	1.71	1.40
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	0.93	>12.00	4.96	1.07	4.22	1.66	1.85	>12.00	11.43	1.30	>12.00	4.85

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Milionaria

team di appartenenza: AUDI razza: argentino sesso: F età: 7 anni provenienza: Roma
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 36/min tempo di riempimento capillare: 1 sec

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 21:30		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	C	B
Frequenza cardiaca	36	44	40	36	56	40	40	88	72	40	80	76
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione		1	1	1	1	1	1	2	3		3	3
T. di riemp. capillare	1	1	1	1	1	1	1	2	3	1	3	2
RBC (6.80-12.90 M/μl)	8,10	11,57	9,23	8,52	10,20	8,97	7,49	11,34	9,75	9,06	12,06	9,86
HCT (32-53%)	38	55	43,6	43,9	52,5	46,4	40,5	62,4	53,6	53,9	72,9	59,3
HGB (11-19 g/dl)	15,1	18,9	16,8	13,6	17,2	15,6	12,8	19,5	17,1	14,2	19,2	16,0
MCV (37-58 fl)	46,9	47,5	47,3	51,5	51,5	51,7	54,1	55,0	55,0	59,5	60,5	60,1
MCH (12.30-19.90 pg)	18,69	16,37	18,24	16,00	16,87	17,39	17,10	17,24	17,50	15,67	15,93	16,25
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		34,4	38,6	31,1	32,8	33,6	31,6	31,3	31,8	26,3	26,3	27,0
RDW (17-21%)	19,5	19,5	19,5	18,8	19,1	18,9	18,8	18,9	18,8	18,6	18,7	18,7
WBC (5.40-14.30 K/μl)	7,36	8,55	8,48	8,33	13,05	12,91	10,73	13,86	11,08	8,95	17,56	14,26
NEU (2.26-8.50 K/μl)	4,88	5,75	5,59	5,00	10,48	10,62	7,00	7,41	6,79	5,30	10,34	10,42
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,85	2,14	2,31	2,66	1,83	1,57	3,08	5,64	3,66	2,96	6,41	3,05

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,36	0,37	0,32	0,41	0,40	0,39	0,40	0,49	0,33	0,39	0,42	0,39
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,27	0,28	0,25	0,23	0,30	0,27	0,21	0,26	0,26	0,28	0,34	0,36
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,01	0,02	0,01	0,03	0,04	0,05	0,03	0,07	0,04	0,02	0,05	0,03
PLT (90-350 K/μl)	61	60	56	79	64	75	71	50	64	97	61	93
MPV	13,40	10,67	9,02	5,95	6,27	6,00	6,08	5,56	5,69	6,38	6,20	5,46
PDW	19,7	17,6	16,7	16,0	16,5	15,8	15,6	15,5	15,0	16,2	15,7	15,0
PCT	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	10,3	10,1	9,8	11,2	10,2		11,1	10,6	11,3	10,2	9,8	9,5
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	4,8	4,3	3,7	3,3	2,1		2,3	2,7	1,3	4,0	3,4	2,1
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,7	6,8	6,8	6,4	6,8		6,3	7,3	6,9	6,3	7,0	6,3
AST (100-600 U/L)												
LDH (250-2070 U/L)	962	1030	1164	642	936		681	1069	1092	743	876	830
CK (10-350 U/L)	581	654	642	131	226		128	292	308	162	236	217
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,78	1,75	1,67	1,47	1,30		1,56	1,47	1,29	1,92	1,80	1,56
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	0,76	2,78	1,06	0,80	>12,00		1,69	>12,00	12,00	0,94	>12,00	3,28

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Fanfarrone

team di appartenenza: AUDI razza: argentino sesso: Castrato età: 9 anni provenienza: Roma
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 36/min tempo di riempimento capillare: 1 sec

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 21:30		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	B	B	A	C	B	A		A	A	B	A
Frequenza cardiaca	36	64	40	32	88	56	42		64	42	80	44
Sudorazione												
disidratazione		1	1	1	2	2	1		1	1	1	2
T. di riemp. capillare	1	3	1	1	2	2	1		1	1	2	1
RBC (6.80-12.90 M/μl)	8,39	11,77	10,03	7,79	12,2	8,89			10,48	7,73	12,53	9,69
HCT (32-53%)	42,1	58,9	49,8	43,1	68,0	49,7			59,1	47,1	77,3	59,9
HGB (11-19 g/dl)	16,6	21,9	18,1	13,7	21,5	16,1			18,8	13,4	20,9	16,8
MCV (37-58 fl)	50,2	50,0	49,7	55,2	56,6	55,9			56,4	60,9	61,7	61,8
MCH (12.30-19.90 pg)	19,75	18,57	18,01	17,59	17,88	18,12			17,97	17,33	16,65	17,29
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	39,4	37,1	36,3	31,8	31,6	32,4			31,9	28,5	27,0	28,0
RDW (17-21%)	18,7	18,6	18,4	17,9	18,2	17,9			17,9	17,9	18,0	18,0
WBC (5.40-14.30 K/μl)	9,19	9,08	8,89	8,43	11,58	9,07			10,37	10,19	14,72	17,08
NEU (2.26-8.50 K/μl)	6,43	6,29	6,19	5,64	6,38	5,68			6,32	5,35	7,55	8,97
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,96	2,05	2,02	2,17	4,59	2,73			3,39	4,01	6,37	7,18

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,39	0,35	0,30	0,26	0,27	0,27			0,26	0,26	0,22	0,27
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,40	0,39	0,36	0,35	0,32	0,37			0,39	0,56	0,56	0,65
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02			0,02	0,01	0,02	0,02
PLT (90-350 K/μl)	84	68	101	65	44	55			44	89	62	72
MPV	9,47	8,53	12,53	5,89	5,77	6,11			5,64	6,71	6,15	5,52
PDW	17,9	16,8	21,9	16,2	15,3	16,1			16,0	17,0	15,9	14,9
PCT	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0			0,0	0,1	0,0	0,0
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	10,4	10,4	9,9	11,9	10,8	10,9	11,6		11,0	11,3	10,4	10,5
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	4,5	4,4	3,2	4,0	4,6	2,3	3,9		3,2	4,0	4,3	2,1
TP (5.6-7.9 g/dl)	7,3	7,6	7,3	6,9	8,0	6,9	6,7		7,0	6,6	7,6	6,7
AST (100-600 U/L)	416	466	479	395	483	448	431		485	399	503	506
LDH (250-2070 U/L)	934	947	1055	952	841	934	822		1047	771	938	1071
CK (10-350 U/L)	191	223	222	189	258	217	204		240	211	271	254
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,80	1,85	1,71	1,73	1,72	1,63	1,79		1,60	1,80	1,76	1,42
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,10	6,72	1,02	0,88	>12,00	9,17	1,30		>12,00	0,90	>12,00	3,07

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Campari

team di appartenenza: Web Eyewear **razza:** argentino **sexo:** F **età:** adulto > 4 anni **provenienza:** Svizzera
condizioni del soggetto: buone
temperatura corporea: normale **stato di nutrizione:** buono **stato del sensorio:** normale **linfonodi sottomascellari:** normali
apparato muscolo scheletrico: normale **cute:** disidratazione 1 **mucose:**A **frequenza respiratoria:** normale
frequenza cardiaca: 32/min **tempo di riempimento capillare:** 1

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 19:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	B	B	A		A	A	C	B	A	B	A
Frequenza cardiaca	32	72	40	28		40	32	108	40	32	80	36
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione		3	3	2		1	1	3	2	2	2	2
T. di riemp. capillare	1	3	2	1		1	1	3	1	1	3	1
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,44	10,13	8,50			7,30	6,88	11,25	8,69	6,65	11,46	8,36
HCT (32-53%)	36,5	50,7	42,2			36,2	37,1	61,9	47,9	41,6	67,0	50,5
HGB (11-19 g/dl)	14,7	19,5	16,4			14,4	11,9	18,8	15,1	12,0	18,6	15,1
MCV (37-58 fl)	49,0	50,0	49,6			49,6	54,0	55,0	55,0	62,6	58,4	60,4
MCH (12.30-19.90 pg)	19,79	19,26	19,34			19,77	17,29	16,68	17,41	18,01	16,27	18,12
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		38,5	39,0				32,0	30,3	31,6	28,8	27,8	30,0
RDW (17-21%)	18,8	18,9	18,9			18,8	18,9	18,5	18,3	18,1	18,3	18,4
WBC (5.40-14.30 K/μl)	7,12	9,14	8,12			6,39	9,95	8,38	7,07	6,92	10,19	8,90
NEU (2.26-8.50 K/μl)	4,87	6,11	5,59			4,23	6,11	5,20	4,81	4,22	6,15	5,72
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,67	2,32	1,98			1,66	3,25	2,62	1,67	2,29	3,27	2,64

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,32	0,46	0,32			0,28	0,30	0,34	0,33	0,25	0,55	0,36
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,25	0,24	0,21			0,20	0,26	0,20	0,23	0,13	0,17	0,14
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,01	0,01	0,02			0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,06	0,04
PLT (90-350 K/μl)	79	90	86			83	113	74	51	130	61	99
MPV	10,19	12,69	11,83			11,48	6,70	5,50	5,84	7,28	6,08	6,39
PDW	17,7	21,6	20,2			20,2	17,9	15,3	15,2	17,9	16,5	15,8
PCT	0,1	0,1	0,1			0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,6		11,3	11,6		10,3	11,5	11,1	11,2	10,8	10,9	10,7
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	4,1		3,0	3,6		3,4	3,2	3,6	2,2	2,8	4,0	2,7
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,5		6,8	6,9		6,3	6,9	7,2	6,9	6,8	7,5	7,0
AST (100-600 U/L)	425		447	417		483	767	523	491	442	533	500
LDH (250-2070 U/L)	537		652	608		593	892	712	727	626	801	710
CK (10-350 U/L)	72		107	91		109	166	119	111	123	189	144
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,68		1,42	1,61		1,45	1,60	1,75	1,53	1,60	1,61	1,33
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	0,89		3,77	0,79		3,55	2,13	9,61	2,68	1,03	7,50	1,99

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Lola

team di appartenenza: Web Eyewear **razza:** argentino **sexo:** F **età:** adulto > 4 anni **provenienza:** Svizzera
condizioni del soggetto: buone
temperatura corporea: normale **stato di nutrizione:** buono **stato del sensorio:** normale **linfonodi sottomascellari:** normali
apparato muscolo scheletrico: normale **cute:** disidratazione 1 **mucose:**A **frequenza respiratoria:** normale
frequenza cardiaca: 44/min **tempo di riempimento capillare:** 1

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 19:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	A	A	A	B	A	A	C	A	A		
Frequenza cardiaca	44	56	44	36	72	48	28	104 flutter	48	28		
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente		
disidratazione	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1		
T. di riemp. capillare	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1		
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,04	8,84	7,62	6,81	8,85	7,49	7,19	10,04	8,60	6,57		
HCT (32-53%)	34,5	43,4	37,0	37,8	49,7	41,9	41,5	58,4	49,9	36,8		
HGB (11-19 g/dl)	14,0	16,0	14,3	12,2	15,1	12,8	12,5	16,6	12,6	11,0		
MCV (37-58 fl)	49,0	49,1	48,5	55,5	56,2	55,9	57,7	58,1	58,1	56,1		
MCH (12.30-19.90 pg)	19,84	18,06	18,75	17,90	17,03	17,04	17,33	16,51	14,62	16,75		
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		36,8	38,7	32,2	30,3	30,5	30,0	28,4	25,2	29,9		
RDW (17-21%)	19,4	19,1	19,2	19,2	19,0	18,9	18,2	18,6	18,8	18,8		
WBC (5.40-14.30 K/μl)	9,90	8,79	9,17	9,14	8,60	9,33	7,94	11,19	9,46	10,18		
NEU (2.26-8.50 K/μl)	5,58	4,87	5,12	5,07	4,98	5,47	5,06	5,98	5,71	6,34		
LYM (1.50-7.70 K/μl)	3,66	3,38	3,39	3,28	3,01	3,19	2,30	4,72	3,20	3,24		

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,40	0,37	0,41	0,51	0,39	0,41	0,34	0,27	0,29	0,37		
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,24	0,17	0,23	0,23	0,18	0,23	0,22	0,20	0,25	0,21		
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,02	0,01	0,02	0,06	0,03	0,04	0,02	0,03	0,01	0,03		
PLT (90-350 K/μl)	97	82	84	64	40	84	94	44	79	96		
MPV	12,90	12,49	11,99	5,04	4,88	5,04	8,72	4,97	5,09	5,54		
PDW	21,3	21,6	20,3	15,2	14,6	14,9	20,7	15,1	14,7	15,4		
PCT	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1		
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,1	10,6	10,6	11,4	10,1	10,7	11,6	10,7	11,6	11,6		
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3,4	3,4	2,8	3,4	3,3	2,8	3,4	3,6	1,9	4,1		
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,8	7,0	7,1	7,0	6,6	7,1	6,4	7,2	7,0	6,8		
AST (100-600 U/L)	1048	1063	1083	1013	947	1028	405	796	786	716		
LDH (250-2070 U/L)	994	935	973	1001	732	1048	666	774	813	759		
CK (10-350 U/L)	396	372	354	205	223	251	123	214	189	166		
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,61	1,47	1,42	1,54	1,26	1,33	1,86	1,55	1,34	1,68		
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,03	4,69	0,87	0,78	8,52	2,12	2,13	>12,00	4,55	0,80		

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Brasita

team di appartenenza: Cala di Volpe **razza:** argentino **sesso:** FB **età:** adulto > 4 anni
condizioni del soggetto: buone
temperatura corporea: normale **stato di nutrizione:** buono **stato del sensorio:** normale **linfonodi sottomascellari:** normali
apparato muscolo scheletrico: normale **cute:** disidratazione 1 **mucose:**A **frequenza respiratoria:** normale
frequenza cardiaca:32/min **tempo di riempimento capillare:** 1

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno secondo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 19:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B
Frequenza cardiaca	32	60	36	35	80	52	32	88	44	32	112	50
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione		1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
T. di riemp. capillare	1	2	1	1	1	1	1	2	2	1	2	1
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,33	10,43	8,50	8,74	12,08	8,49	7,11	9,97	7,83	6,62	11,85	9,06
HCT (32-53%)	36,4	52,9	42,7	43,2	61,4	43,2	40,8	57,4	45,1	42,1	76,4	58,5
HGB (11-19 g/dl)	14,4	20,6	15,6	16,7	21,5	17,3	13,6	21,1	15,6	13,4	20,8	15,9
MCV (37-58 fl)	49,7	50,7	50,2	49,4	50,9	50,9	57,4	57,6	57,6	63,7	64,5	64,5
MCH (12.30-19.90 pg)	19,59	19,74	18,39	19,08	17,79	20,35	19,17	21,19	19,92	20,19	17,58	17,59
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	39,4	39,0	36,6	38,6	35,0		33,4	36,8	34,6	31,7	27,3	27,3
RDW (17-21%)	18,4	18,5	18,5	19,0	18,9	19,0	18,2	18,9	18,1	18,3	18,0	17,8
WBC (5.40-14.30 K/μl)	6,21	7,16	5,85	5,88	7,02	586	8,69	8,74	8,16	7,26	9,96	8,69
NEU (2.26-8.50 K/μl)	4,31	5,09	3,96	3,86	4,37	3,57	5,34	5,40	5,63	3,73	4,54	4,12
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,26	1,51	1,34	1,55	2,05	1,49	2,25	2,63	1,70	2,88	4,85	4,02

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,34	0,24	0,25	0,29	0,31	0,36	0,63	0,35	0,42	0,38	0,29	0,36
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,30	0,31	0,30	0,17	0,28	0,41	0,43	0,34	0,38	0,24	0,24	0,17
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,01	0,02	0,00	0,02	0,01	0,03	0,05	0,03	0,03	0,03	0,04	0,02
PLT (90-350 K/μl)	86	84	84	59	46	70	90	37	74	79	47	83
MPV	12,70	13,19	8,74	11,32	19,69	13,99	10,11	5,51	5,80	6,26	5,35	5,95
PDW	19,9	22,0	16,9	19,7	24,5	22,0	21,6	15,4	15,7	15,7	14,9	15,6
PCT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,3	10,6	10,3	12,7	11,5	11,1	11,9	10,9	11,0	11,5	10,2	10,5
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3,1	3,1	2,6	3,2	4,0	3,9	3,3	4,0	2,4	3,9	4,7	3,0
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,8	7,4	7,1	7,0	8,0	7,6	7,2	8,1	7,7	6,9	7,8	7,1
AST (100-600 U/L)	359	394	396	393	482	477	393	474	449	379	455	429
LDH (250-2070 U/L)	748	870	846	660	853	806	832	913	1001	806	851	904
CK (10-350 U/L)	100	176	143	117	191	191	94	151	170	124	212	231
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,46	1,34	1,31	1,70	1,61	1,59	1,69	1,47	1,32	1,63	1,60	1,40
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,08	5,98	1,61	0,95	>12,00	>12,00	1,31	>12,00	3,47	1,11	>12,00	9,37

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Indigo

team di appartenenza: Cala di Volpe razza: argentino sesso: FB età: Adulto > 4 anni
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 36/min tempo di riempimento capillare: 1

	Giorno primo 06/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno secondo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno terzo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 19:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	C	C	A	C	B	A	C	B	A	C	B
Frequenza cardiaca	36	72	48	40	64	40	32	76	40	32	68	50
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione		3	3	1	2	1	1	3	2	1	3	3
T. di riemp. capillare	1	3	3	1	2	1	1	2	2	1	3	2
RBC (6.80-12.90 M/μl)	9,1	10,25	9,14	7,64	12,97	8,45	7,62		9,41	8,08	11,16	9,87
HCT (32-53%)		54,0	46,6	40,5	69,1	45,1	42,1		55,6	48,7	68,3	60,5
HGB (11-19 g/dl)		21,1	17,8	15,4	21,4	17,0	13,7		16,9	13,3	20,1	17,1
MCV (37-58 fl)		52,7	51,0	52,9	53,3	53,4	55,3		59,1	60,2	61,2	61,3
MCH (12.30-19.90 pg)		20,61	19,42	20,10	16,54	20,09	17,93		17,98	16,51	18,01	17,29
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		39,1	38,1	38,0	31,1	37,6	32,4		30,4	27,4	29,4	28,2
RDW (17-21%)		19,5	18,7	19,3	19,3	19,1	18,8		18,5	18,5	18,7	18,5
WBC (5.40-14.30 K/μl)	3,15	6,90	8,93	7,47	7,58	7,95	6,92		8,64	7,19	996	9,37
NEU (2.26-8.50 K/μl)	2,43	4,62	6,64	4,9	5,25	5,75	6,07		6,46	5,48	6,64	6,71
LYM (1.50-7.70 K/μl)	0,38	1,80	1,67	1,96	1,77	1,57	0,31		1,65	1,18	2,73	2,01

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,23	0,30	0,38	0,41	0,36	0,41	0,33		0,34	0,40	0,39	0,42
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,10	0,18	0,23	0,18	0,18	0,21	0,20		0,16	0,12	0,17	0,21
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,00	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02		0,04	0,01	0,03	0,02
PLT (90-350 K/μl)		64	74	86	80	75	83		92	73	53	84
MPV		8,36	12,08	9,86	10,64	18,00	8,77		7,09	6,03	5,26	5,66
PDW		16,5	20,2	18,1	20,1	23,1	18,5		17,1	16,2	14,9	15,1
PCT		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	0,0	0,0	0,0
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,8	10,6	10,8	11,8	11,2	10,9	11,6	10,9	11,9	13,6	11,0	11,4
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	4,2	4,3	3,0	3,1	3,6	2,5	3,1	3,3	2,1	4,1	3,0	2,2
TP (5.6-7.9 g/dl)	7,0	7,8	7,2	7,0	7,7	7,2	7,1	8,0	8,0	7,8	7,4	7,7
AST (100-600 U/L)	523	612	581	530	604	581	520	636	645	574	575	612
LDH (250-2070 U/L)	653	846	830	679	705	760	676	831	882	785	779	995
CK (10-350 U/L)	113	176	193	132	194	171	104	155	162	120	195	225
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,60	1,54	1,45	1,84	1,56	1,42	1,83	1,58	1,61	2,15	1,64	1,67
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	0,97	>12,00	4,99	1,17	>12,00	3,90	1,34	9,20	2,20	1,11	11,00	3,30

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Caprice

team di appartenenza: Cala di Volpe razza: PSI sesso: FS età: 8 anni provenienza: Toscana
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 32/min tempo di riempimento capillare: 1

	Giorno primo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno secondo 09/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno terzo 12/07/2008 Gara di semifinale ore 19:00			Giorno quarto Gara di		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	B	A	A	B	B	A	B	B			
Frequenza cardiaca	32	120	48	36	88	52	34	104	52			
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente				
disidratazione		2	1	1	2	2	1	2	1			
T. di riemp. capillare	1	2	1	1	2	2	1	2	1			
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,02	11,59	9,48		11,26	8,20	7,31	10,39	8,67			
HCT (32-53%)	39,9	65,8	53,6		63,4	44,8	45,2	64,8	54,2			
HGB (11-19 g/dl)	13,9	20,4	16,5		20,5	15,2	12,5	18,0	14,5			
MCV (37-58 fl)	56,8	56,8	56,5		56,3	54,6	61,8	62,4	62,5			
MCH (12.30-19.90 pg)	19,84	17,58	17,42		18,23	18,57	17,05	17,34	16,78			
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	35,0	30,9	30,8		32,4	34,0	27,6	27,8	26,8			
RDW (17-21%)	18,5	18,4	18,3		18,2	18,3	18,0	18,0	18,0			
WBC (5.40-14.30 K/μl)	3,04	5,35	4,51		10,22	8,40	6,78	6,62	6,99			
NEU (2.26-8.50 K/μl)	0,77	2,11	1,32		5,34	5,05	3,31	3,05	3,30			
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,41	2,71	2,15		3,87	2,50	2,51	2,62	2,82			

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,55	0,32	0,73		0,60	0,50	0,62	0,61	0,50			
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,27	0,18	0,28		0,36	0,31	0,30	0,31	0,33			
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,03	0,03	0,02		0,06	0,04	0,04	0,04	0,04			
PLT (90-350 K/μl)	53	26	59		46	79	72	48	73			
MPV	7,95	7,62	5,57		6,46	6,94	6,35	5,43	5,71			
PDW	17,9	17,5	14,9		17,7	17,4	16,4	14,8	15,5			
PCT	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1	0,0	0,0	0,0			
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	12,3	11,1	11,4		11,1	11,0	11,8	11,4	9,8			
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	2,6	3,8	2,4		3,8	2,8	3,4	3,9	3,3			
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,5	7,3	7,3		7,1	6,6	6,4	6,8	6,7			
AST (100-600 U/L)	399	512	499		488	431	382	426	424			
LDH (250-2070 U/L)	515	673	760		723	699	398	723	736			
CK (10-350 U/L)	141	221	217		192	176	221	263	255			
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,52	1,42	1,21		1,51	1,11	1,61	1,52	1,47			
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,10	>12,00	4,22		>12,00	6,72	0,95	4,73	1,65			

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Afrodite

team di appartenenza: Jaeger Le Coultre **razza:** argentino **sexo:** FG **età:** adulto > 4 anni **provenienza:** Toscana
condizioni del soggetto: buone
temperatura corporea: normale **stato di nutrizione:** buono **stato del sensorio:** normale **linfonodi sottomascellari:** normali
apparato muscolo scheletrico: normale **cute:** disidratazione 1 **mucose:**A **frequenza respiratoria:** normale
frequenza cardiaca: 30/min **tempo di riempimento capillare:** 1 sec.

	Giorno primo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 20:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	C	C	A	C	A	A	C	C	A	C	C
Frequenza cardiaca	32	60	40	32	88	40	32	80	48	28	100	64
Sudorazione	Assente	presente		Assente	presente		Assente	presente		Assente	presente	
disidratazione		3	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1
T. di riemp. capillare	1	2	1	1	2	1	1	3	3	1	2	3
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,45	11,80	8,77	7,52	12,82	9,20	8,05	11,04	9,00	7,21	12,75	10,07
HCT (32-53%)	40,8	66,0	48,5	40,1	69,1	49,1	43,4	60,4	49,3	40,9	74,2	58,6
HGB (11-19 g/dl)	12,5	19,9	15,3	12,5	21,1	15,3	12,7	17,8	14,6	12,1	20,7	15,7
MCV (37-58 fl)	54,8	55,9	55,3	53,3	53,9	53,4	54,0	54,7	54,8	56,8	58,2	58,2
MCH (12.30-19.90 pg)	16,82	16,84	17,44	16,60	16,49	16,64	15,77	16,14	16,17	16,74	16,20	15,59
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	30,7	30,1	31,5	31,1	30,6	31,2	29,2	29,5	29,5	29,5	27,8	26,8
RDW (17-21%)	19,0	18,9	19,1	18,7	18,9	18,7	18,7	18,6	18,6	18,6	18,6	18,5
WBC (5.40-14.30 K/μl)	6,46	8,77	10,88	7,48	8,62	8,67	7,31	8,38	7,82	7,54	10,12	8,64
NEU (2.26-8.50 K/μl)	4,15	5,11	8,18	4,48	5,19	5,89	4,37	4,87	4,55	4,52	5,35	5,24
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,68	3,12	1,94	2,28	2,78	2,12	2,27	2,87	2,73	2,34	4,03	2,71

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,40	0,36	0,47	0,43	0,37	0,36	0,37	0,37	0,31	0,34	0,48	0,38
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,21	0,15	0,26	0,27	0,25	0,29	0,27	0,27	0,21	0,32	0,23	0,29
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,01	0,03	0,02
PLT (90-350 K/μl)	92	43	65	89	45	75	90	54	72	99	62	65
MPV	5,98	5,62	5,57	5,59	5,47	5,99	5,83	5,77	5,80	6,05	5,77	5,43
PDW	15,4	15,9	15,1	15,6	15,1	16,9	15,5	16,2	15,4	15,8	15,6	15,2
PCT	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,7	11,6	11,6	10,8	11,4	11,0	12,0	11,7	11,6	11,9	11,6	11,2
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3,0	3,2	1,5	3,4	3,7	2,0	3,6	3,5	2,6	3,6	4,2	2,2
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,8	7,6	7,3	6,8	8,1	7,2	7,1	7,5	7,3	7,2	8,0	7,1
AST (100-600 U/L)	311	368	357	587	403	363	301	343	339	309	385	329
LDH (250-2070 U/L)	518	601	640	704	735	674	578	607	677	487	603	580
CK (10-350 U/L)	79	130	126	88	172	152	67	81	87	64	102	89
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,74	1,62	1,61	1,46	1,64	1,46	1,69	1,50	1,47	1,64	1,65	1,46
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,00	12,00	3,72	1,26	12,00	5,67	1,25	7,44	1,47	0,90	>12,00	8,91

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Sacura

team di appartenenza: Jaeger Le Coultre razza: argentino sesso: FS età: età adulta > 4 anni provenienza: Toscana
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 1 mucose:A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 32/min tempo di riempimento capillare: 1

	Giorno primo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 13/07/2008 Gara di finale ore 17:15		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A
Frequenza cardiaca	32	56	52	36	60	40	32	88	60	36	88	44
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	2
T. di riemp. capillare	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	2
RBC (6.80-12.90 M/μl)	6,30	10,24	8,81	7,36	9,15	8,45	7,51	12,03	9,85	7,27	11,16	9,18
HCT (32-53%)	31,5	51,2	43,6	39,0	49,2	45,2	41,7	68,3	55,8	39,5	60,3	48,3
HGB (11-19 g/dl)	13,3	17,7	15,0	12,5	16,0	14,1	12,3	19,3	15,5	12,3	18,7	14,0
MCV (37-58 fl)	50,1	50,0	49,5	52,9	53,8	53,5	55,6	56,7	56,7	54,4	54,1	52,6
MCH (12.30-19.90 pg)	21,19	17,26	17,07	16,98	17,45	16,66	16,38	16,08	15,73	16,88	16,78	15,27
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		34,5	34,5	32,1	32,5	31,1	29,5	28,3	27,8	31,0	31,1	29,0
RDW (17-21%)	19,2	19,1	18,8	18,3	18,3	18,1	18,2	18,4	18,2	18,4	18,6	18,8
WBC (5.40-14.30 K/μl)	9,56	8,19	7,92	6,73	6,03	5,22	7,39	8,95	8,54	6,34	10,30	8,96
NEU (2.26-8.50 K/μl)	4,64	5,12	5,81	4,44	3,95	3,59	4,71	4,89	4,97	4,30	6,67	7,65
LYM (1.50-7.70 K/μl)	3,60	2,60	1,49	1,72	1,59	1,23	2,16	3,55	3,09	1,55	3,05	0,71

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,45	0,26	0,34	0,38	0,32	0,26	0,34	0,35	0,28	0,34	0,42	0,37
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,83	0,21	0,27	0,16	0,14	0,14	0,16	0,15	0,18	0,12	0,13	0,19
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,06	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,02	0,01	0,03	0,04	0,03	0,04
PLT (90-350 K/μl)	92	85	69	90	42	75	57	30	56	71	61	88
MPV	12,08	9,71	15,34	7,74	7,15	7,21	7,83	7,00	6,71	8,09	7,87	10,27
PDW	19,6	16,9	21,4	17,3	16,5	17,4	17,0	16,8	15,4	18,0	17,3	19,4
PCT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	12,0	11,8	11,4	12,7	11,8	11,7	12,1	11,2	11,6	11,9	11,1	11,9
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3,9	3,5	2,9	3,6	3,5	2,7	3,1	4,1	2,1	3,4	3,8	2,1
TP (5.6-7.9 g/dl)	7,1	7,5	7,4	7,5	7,8	7,6	7,3	8,1	7,3	7,2	8,0	7,2
AST (100-600 U/L)	340	371	372	341	385	392	345	414	371	339	415	385
LDH (250-2070 U/L)	544	578	526	594	713	725	813	861	826	712	841	906
CK (10-350 U/L)	103	144	110	99	131	124	175	250	216	189	200	250
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,51	1,50	1,54	1,57	1,45	1,42	1,63	1,73	1,63	1,66	1,64	1,42
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,10	2,89	1,02	0,78	10,57	3,11	1,59	>12,00	>12,00	0,79	>12,00	4,61

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Pilar

team di appartenenza: Jaeger Le Coultre **razza:** argentino **sexo:** FS **età:** adulto > 4 anni **provenienza:** Toscana
condizioni del soggetto: buone
temperatura corporea: normale **stato di nutrizione:** buono **stato del sensorio:** normale **linfonodi sottomascellari:** normali
apparato muscolo scheletrico: normale **cute:** disidratazione 1 **mucose:**A **frequenza respiratoria:** normale
frequenza cardiaca: 36/min **tempo di riempimento capillare:** 1 sec.

	Giorno primo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 20:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	B	A	A	A	A	A	C	A	A	B	A-B
Frequenza cardiaca	36	120	52	32	68	48	36	108	52	32	68	40
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione		2	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1
T. di riemp. capillare	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
RBC (6.80-12.90 M/μl)	5,71	10,23	7,85	5,92	9,72	7,25	5,55	10,69	7,81	5,20	10,15	6,92
HCT (32-53%)	29,8	54,0	41,0	33,1	52,9	40,3	32,9	64,3	46,9	33,5	65,7	45,0
HGB (11-19 g/dl)	11,9	19,6	15,7	11,4	18,5	14,1	10,3	19,4	14,0	10,4	18,0	12,6
MCV (37-58 fl)	52,3	52,9	52,3	55,8	54,4	55,6	59,3	60,1	60,1	64,4	64,7	65,1
MCH (12.30-19.90 pg)	20,93	19,17	20,05	19,20	19,06	19,51	18,50	18,11	17,92	20,09	17,75	18,19
MCHC (31.0-38.6 g/dl)		36,3	38,4	34,4	35,0	35,1	31,2	30,1	29,8	31,2	27,4	27,9
RDW (17-21%)	18,6	18,7	18,5	18,0	18,0	18,0	17,8	17,9	17,8	17,7	17,7	17,6
WBC (5.40-14.30 K/μl)	8,90	11,25	9,83	9,28	9,86	9,29	7,85	10,72	9,22	8,04	10,30	8,73
NEU (2.26-8.50 K/μl)	6,14	7,18	6,25	5,99	6,26	6,41	5,44	5,96	5,76	5,19	5,92	5,11
LYM (1.50-7.70 K/μl)	1,94	3,39	2,78	2,36	2,93	2,12	1,66	4,18	2,72	2,17	3,83	2,97

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,43	0,33	0,39	0,55	0,41	0,46	0,43	0,28	0,36	0,33	0,23	0,28
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,34	0,30	0,35	0,31	0,23	0,26	0,31	0,27	0,37	0,31	0,31	0,35
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,05	0,06	0,06	0,06	0,03	0,04	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02
PLT (90-350 K/μl)	67	67	92	85	41	65	64	36	62	88	43	87
MPV	15,00	8,56	10,17	5,44	4,70	4,85	5,58	4,93	5,24	8,14	5,35	6,38
PDW	21,6	17,0	19,2	15,7	15,0	14,7	15,7	14,6	14,7	20,1	14,8	17,5
PCT	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,2	9,6	10,8	11,6	11,3	11,2	11,9	11,3	11,5	11,6	11,1	11,6
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3,0	3,2	1,9	3,1	2,5	1,4	3,2	3,9	2,4	3,4	3,7	2,9
TP (5.6-7.9 g/dl)	7,3	7,9	7,4	7,4	8,1	7,8	7,3	8,0	7,5	7,4	8,2	7,4
AST (100-600 U/L)	209	266	244	278	354	345	288	364	329	300	347	321
LDH (250-2070 U/L)	467	567	484	649	880	888	629	673	686	550	633	622
CK (10-350 U/L)	76	135	141	261	525	506	156	222	188	143	206	184
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,53	1,38	1,24	1,44	1,33	1,25	1,46	1,48	1,20	1,50	1,48	1,24
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,10	>12,00	4,59	1,18	>12,00	2,54	1,13	>12,00	5,73	1,03	>12,00	3,28

Tabella 5. Dati segnaletici, esame clinico e parametri di laboratorio ottenuti per ogni cavallo ad ogni giornata di gara, nei tempi T0, T1 e T2

Cavallo: Cagnita

team di appartenenza: Jaeger Le Coultre razza: argentino sesso: FS età: adulto > 4 anni provenienza: Toscana
 condizioni del soggetto: buone
 temperatura corporea: normale stato di nutrizione: buono stato del sensorio: normale linfonodi sottomascellari: normali
 apparato muscolo scheletrico: normale cute: disidratazione 2 mucose: A frequenza respiratoria: normale
 frequenza cardiaca: 32/min tempo di riempimento capillare: 1

	Giorno primo 07/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno secondo 08/07/2008 Gara di qualificazione ore 20:00			Giorno terzo 11/07/2008 Gara di qualificazione ore 21:30			Giorno quarto 12/07/2008 Gara di semifinale ore 20:00		
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2
mucose	A	A	A	A		A	A	B	B	A		A
Frequenza cardiaca	32	72	44	40		44	32	80	44	32		52
Sudorazione	assente	presente		assente	presente		assente	presente		assente	presente	
disidratazione	2	2	2	3		1	1	2	2	2		1
T. di riemp. capillare	1	2	1	2		1	1	2	1	1		1
RBC (6.80-12.90 M/μl)	7,46		7,63	6,39		7,97	6,71	10,21	8,02	6,86		8,51
HCT (32-53%)	39,7		45,0	35,3		46,1	37,0	57,9	45,9	44,9		56,4
HGB (11-19 g/dl)	14,9		14,4	12,1		15,6	12,1	18,5	14,6	12,1		15,1
MCV (37-58 fl)	53,3		58,9	55,2		57,8	55,1	56,7	57,2	65,5		66,3
MCH (12.30-19.90 pg)	19,98		18,81	18,88		19,54	18,07	18,10	18,19	17,63		17,70
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	37,5		31,9	34,2		33,8	32,8	31,9	31,8	26,9		26,7
RDW (17-21%)	19,0		18,5	18,3		18,4	18,0	18,2	18,2	18,0		17,8
WBC (5.40-14.30 K/μl)	8,82		10,36	11,38		12,67	7,55	9,19	8,26	8,06		9,52
NEU (2.26-8.50 K/μl)	5,84		7,17	9,61		10,34	6,35	7,39	6,27	5,36		5,07
LYM (1.50-7.70 K/μl)	2,15		2,41	1,03		1,75	0,66	1,38	1,54	2,07		3,81

MONO (0.10-1.00 K/μl)	0,53		0,52	0,35		0,32	0,24	0,29	0,26	0,41		0,39
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0,27		0,23	0,36		0,23	0,27	0,11	0,16	0,18		0,21
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0,04		0,04	0,03		0,03	0,03	0,03	0,02	0,04		0,05
PLT (90-350 K/μl)	20		56	70		65	47	47	51	83		81
MPV			6,16	9,22		6,51	12,90	7,23	6,73	7,26		6,57
PDW			16,1	20,1		16,1	21,3	16,9	16,5	17,0		16,0
PCT			0,0	0,1		0,0	0,1	0,0	0,0	0,1		0,1
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11,7	11,1	11,2	11,5		11,4	11,4	11,0	11,7	11,6		11,8
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	2,7	2,9	1,4	0,9		1,1	2,9	3,0	1,5	2,5		1,7
TP (5.6-7.9 g/dl)	6,9	7,6	7,0	6,9		7,6	6,9	7,1	6,8	6,7		6,7
AST (100-600 U/L)	615	687	657	601		695	397	463	457	403		462
LDH (250-2070 U/L)	630	612	773	685		948	501	590	670	490		649
CK (10-350 U/L)	126	180	215	86		146	70	97	93	69		143
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1,64	1,68	1,46	1,49		1,18	1,52	1,46	1,25	1,52		1,42
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1,66	>12,00	3,69	2,48		4,95	2,32	>12,00	4,38	1,87		8,55

Tabella 6. valore medio stimato (\bar{x}) ed errore standard (ES) calcolate per ogni singolo parametro ai tempi T0, T1, T2

Parametro	Media stimata ed errore standard dei parametri valutati prima della gara (T0), subito dopo la gara (T1) e dopo 30 minuti dalla fine della gara (T2)			Valore di p tra i tempi considerati		
	$\bar{x}_{T0} \pm ES_{T0}$	$\bar{x}_{T1} \pm ES_{T1}$	$\bar{x}_{T2} \pm ES_{T2}$	T0 vs T1	T0 vs T2	T1 vs T2
Frcard (20-40 bat/min)	34.6434±1.8320	80.5631±1.9094	48.4358±1.8320	<.0001	<.0001	<.0001
Disidr	1.1510±0.1356	1.7700±0.1311	1.5135±0.1282	0.0024	ns	ns
t. riempimento capillare	1.0211±0.09710	1.9857±0.1007	1.4092±0.09775	<.0001	0.0081	0.0002
RBC(6.80-12.90 M/μl)	7.4009±0.2363	11.0542±0.2399	8.7775±0.2349	<.0001	0.0002	<.0001
HCT (32-53%)	40.5710±1.2022	61.4961±1.2354	48.8549±1.1746	<.0001	<.0001	<.0001
HGB (11-19 g/dl)	13.2399±0.3758	19.3083±0.3805	15.5612±0.3728	<.0001	0.0001	<.0001
MCV (37-58 fl)	55.2093±0.6959	55.4275±0.7215	55.6087±0.6728	ns	ns	ns
MCH (12.30-19.90 pg)	18.0421±0.2890	17.5211±0.2949	17.7960±0.2845	ns	ns	ns
MCHC (31.0-38.6 g/dl)	31.8947±0.5987	31.7775±0.5835	31.9636±0.5564	ns	ns	ns
RDW (17-21%)	18.5359±0.09370	18.6111±0.09568	18.4744±0.09221	ns	ns	ns
WBC (5.40-14.30 K/μl)	7.9684±0.4570	9.7478±0.4676	8.9520±0.4524	0.0103	ns	ns
NEU (2.26-8.50 K/μl)	5.0995±0.3662	5.9363±0.3736	5.8439±0.3631	ns	ns	ns
LYM (1.50-7.70 K/μl)	2.1702±0.1817	3.2148±0.1886	2.4495±0.1785	0.0003	ns	0.0059
MONO (0.10-1.00 K/μl)	0.3913±0.01988	0.3644±0.02038	0.3594±0.01966	ns	ns	ns
EOS (0.10-1.00 K/μl)	0.2695±0.02152	0.2402±0.02208	0.2637±0.02128	ns	ns	ns
BASO (0.00-0.03 K/μl)	0.02852±0.003026	0.03173±0.003114	0.02699±0.002987	ns	ns	ns
PLT (90-350 K/μl)	79.1023±2.8092	55.1981±2.8959	72.5167±2.7346	<.0001	ns	0.0001
MPV	8.0519±0.4524	7.3235±0.4635	7.6001±0.4323	ns	ns	ns
PDW	17.5920±0.3485	16.6875±0.3568	16.8657±0.3339	ns	ns	ns
Pct	0.06905±0.007350	0.02750±0.007532	0.04565±0.007023	0.0004	0.0278	ns
Ca (10.4-12.9 mg/dl)	11.5960±0.1311	10.9258±0.1346	11.1154±0.1314	0.0011	0.0142	ns
Phos (1.8-5.6 mg/dl)	3.3636±0.1205	3.6271±0.1243	2.3965±0.1209	ns	<.0001	<.0001
TP (5.6-7.9 g/dl)	6.9221±0.09320	7.5444±0.09437	7.1410±0.09326	<.0001	ns	0.0046
AST (100-600 U/L)	463.35±51.8832	533.25±52.2302	527.30±51.8329	ns	ns	ns
LDH (250-2070 U/L)	680.63±39.9105	793.90±40.4399	842.49±39.9371	ns	0.0072	ns
CK (10-350 U/L)	144.38±19.1760	208.28±19.7655	201.42±19.2400	0.0267	0.0435	ns
Mg (1.70-2.43 mmol/L)	1.6401±0.03026	1.5573±0.03101	1.4158±0.03032	ns	<.0001	0.0026
Lattati (0.50-1.78 mmol/L)	1.2093±0.3738	10.2402±0.3959	4.7929±0.3779	<.0001	<.0001	<.0001

Tabella 7. valore medio stimato \bar{x} ed errore standard (ES) calcolate per ogni singolo parametro ai tempi T0 dei giorni 1 e 4.

<i>Parametro</i>	$\bar{x}_{T0} \pm ES_{T0}$ primo giorno	$\bar{x}_{T0} \pm ES_{T0}$ ultimo giorno	<i>Valore di p tra i tempi considerati</i>
<i>Frqcard (20-40 bat/min)</i>	34.8316±1.3324	34.3292±1.3324	ns
<i>Disidr</i>	1.2508±0.2650	1.1847±0.1343	ns
<i>t. riempimento capillare</i>	1.0000±0.04215	1.0000±0.04402	ns
<i>RBC (6.80-12.90 M/μl)</i>	7.5575±0.2753	7.2383±0.2807	ns
<i>HCT (32-53%)</i>	37.7591±1.3638	43.9304±1.3662	<.0001
<i>HGB (11-19 g/dl)</i>	14.4169±0.3848	12.5217±0.3855	<.0001
<i>MCV (37-58 fl)</i>	50.8386±0.8921	60.6668±0.8934	<.0001
<i>MCH (12.30-19.90 pg)</i>	19.4780±0.3857	17.4470±0.3864	<.0001
<i>MCHC (31.0-38.6 g/dl)</i>	36.5338±0.9142	28.7944±0.7011	<.0001
<i>RDW (17-21%)</i>	18.9788±0.1217	18.2469±0.1219	<.0001
<i>WBC (5.40-14.30 K/μl)</i>	7.4900±0.5241	7.9189±0.5433	ns
<i>NEU (2.26-8.50 K/μl)</i>	4.7167±0.4164	4.8087±0.4285	ns
<i>LYM (1.50-7.70 K/μl)</i>	2.0317±0.2410	2.4428±0.2503	ns
<i>MONO (0.10-1.00 K/μl)</i>	0.4000±0.02812	0.3427±0.02937	ns
<i>EOS (0.10-1.00 K/μl)</i>	0.3200±0.03602	0.2445±0.03762	ns
<i>BASO (0.00-0.03 K/μl)</i>	0.02583±0.004439	0.02569±0.004618	ns
<i>PLT (90-350 K/μl)</i>	74.3601±5.7938	87.8978±5.7984	ns
<i>MPV</i>	11.0558±0.6767	6.6021±0.6503	<.0001
<i>PDW</i>	18.9109±0.6037	16.7534±0.5783	0.0081
<i>Pct</i>	0.09000±0.01470	0.07273±0.01401	ns
<i>Ca (10.4-12.9 mg/dl)</i>	11.3917±0.1750	11.5583±0.1817	ns
<i>Phos (1.8-5.6 mg/dl)</i>	3.5750±0.1869	3.5674±0.1941	ns
<i>TP (5.6-7.9 g/dl)</i>	6.8750±0.1003	6.9349±0.1030	ns
<i>AST (100-600 U/L)</i>	474.55±57.0819	447.52±59.1176	ns
<i>LDH (250-2070 U/L)</i>	687.17±44.0463	659.20±45.4733	ns
<i>CK (10-350 U/L)</i>	171.92±26.5059	134.82±27.6171	ns
<i>Mg (1.70-2.43 mmol/L)</i>	1.6142±0.04057	1.7122±0.04205	ns
<i>Lattati (0.50-1.78 mmol/L)</i>	1.0600±0.1090	1.0534±0.1124	ns

5. DISCUSSIONI

I dati ottenuti nel nostro lavoro portano a numerose osservazioni interessanti. Il primo aspetto da evidenziare è la scelta dei cavalli da parte dei teams partecipanti alla competizione sportiva. Infatti, secondo quanto riportato nel sito web della Federazione Internazionale del Polo, questo sport richiede al cavallo utilizzato, la velocità di un purosangue inglese, l'intelligenza di un arabo e l'agilità di un quarter, tutte qualità atletiche che vengono attribuite al pony da polo. Se si esclude un soggetto PSI, tutti gli altri partecipanti al torneo appartenevano a questa razza, e undici cavalli su dodici erano di sesso femminile e di età superiore ai 4 anni. In realtà il pony da polo, incrocio tra il rustico criollo ed il velocissimo purosangue inglese, non è riconosciuto come razza equina, ma il tipo allevato in Argentina è assai prossimo a costituire una vera razza. La definizione "pony" è un retaggio dell'epoca in cui nel Manipur si giocava sui pony alti 120 centimetri, anche se oggi si gioca con dei cavalli definiti pony solo per lo sport al quale sono addestrati e non per l'altezza. Il pony da polo presenta, oltre alle caratteristiche atletiche sopra descritte, un'indole estremamente docile ed equilibrata. Lo stesso regolamento internazionale di polo non permette l'ammissione in gara di pony che si dimostrano disobbedienti al cavaliere o che mostrano un particolare vizio comportamentale che possa renderli pericolosi per gli altri cavalli o per i cavalieri. In un lavoro recente, Mukai et al (2007) hanno osservato che cavalli di razza purosangue inglese, in occasione di corse al galoppo, mostravano segni di eccitamento ancora prima di entrare nelle griglie di partenza, con frequenze cardiache che andavano da 97 battiti/min nel paddock quando venivano montati dal fantino a frequenze di 114 battiti/min in prossimità della griglia di partenza. Al contrario i nostri cavalli non mostravano segni di eccitazione neanche a bordo campo poco prima di entrare in gara, confermando l'indole equilibrata tipica di questa razza, sommata alla differente tipologia di gestione e di allenamento che le due discipline sportive hanno.

Le frequenze cardiache valutate subito dopo e a trenta minuti dal termine della prestazione ci hanno permesso di effettuare alcune osservazioni. I dati ottenuti nel nostro lavoro sono simili a quelli ottenuti nei cavalli da polo da Marlin e Allen (1999), che hanno registrato frequenze di 91 ± 10 , 82 ± 9 e 69 ± 10 dopo 3, 5 e 10 minuti dalla fine del gioco, mentre sono più bassi rispetto a quelli ottenuti da Craig et al (1985) con medie di 101 ± 4 e 62 ± 2 subito dopo e 15 minuti dopo la gara. Questa differenza potrebbe essere legata al fatto che, nel lavoro di Craig et al, i prelievi venivano effettuati dopo che i cavalli giocavano per due chukkers consecutivi, e che il secondo prelievo veniva fatto dopo 15 minuti di riposo, e non dopo 30 minuti come nel nostro caso.

La frequenza cardiaca, registrata durante una competizione sportiva, è considerata un buon indicatore dell'intensità dell'esercizio e del tipo di risposta fisiologica attuata dall'organismo. Il suo aumento durante l'attività fisica, a parità di altri fattori, quali l'età, il sesso e l'allenamento, è proporzionale all'intensità e alla durata del lavoro (Freeman D; Betros et al, 2002; Mukai et al, 2003). Gli esercizi che portano ad aumenti dell'HR sotto la soglia di 150-170 battiti/minuto sono tipicamente aerobici, come nel caso dell'endurance. Quando l'esercizio aumenta di intensità, la via aerobica non è più sufficiente per fornire energia e viene sostituita dalla via anaerobica con valori di HR superiori a 150-180 battiti/minuto, come nel caso delle corse di galoppo. I programmi di adattamento del cavallo all'esercizio (es. allenamento, acclimatazione...) portano ad una riduzione degli incrementi dell'HR per esercizi di pari intensità o a frequenze cardiache simili per esercizi di intensità diverse (Freeman D). Per ottenere informazioni in tal senso è interessante poter monitorare tale parametro durante il corso della competizione, com'è stato fatto in passato su vari sport equestri, compreso il polo. Krzywanek et al (1970) hanno registrato frequenze cardiache di circa 200 battiti/minuto in cavalli da corsa durante tutta la gara; Mukai et al (2007) non solo hanno registrato

frequenze di 213-214 battiti/minuto durante la corsa, ma hanno osservato che già alle
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 85

griglie di partenza i cavalli avevano frequenze di circa 171 battiti/minuto dovute all'eccitamento; Snow (1990b) ha registrato frequenze medie di circa 150 battiti/minuto e picchi di 180-210 battiti/minuto durante la fase di cross country in una competizione di driving trial. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al (1991a) hanno registrato frequenze cardiache medie di circa 120 battiti/minuto durante una competizione di volteggio. Marlin et al (1995) hanno registrato durante la fase di cross country di un concorso completo frequenze cardiache di 190 battiti/minuto al livello più alto della competizione. Infine Marlin e Allen (1999) hanno registrato una **frequenza cardiaca media** in un torneo di polo di circa **166 battiti/minuto**. Un confronto tra questi dati sottolinea come il polo, dal punto di vista dello sforzo richiesto, sia uno sport dalle caratteristiche intermedie tra le gare di galoppo e la fase di cross country nelle gare di eventing da una parte e il volteggio, l'endurance e la fase di cross country nelle gare di driving dall'altra. Inoltre nel loro studio sul polo, Marlin e Allen (1999) hanno osservato, su ogni cavallo, **ampie fluttuazione dell'HR (da 139 a 189 battiti/minuto)** indicative della natura del gioco caratterizzato da continue accelerazioni, decelerazioni, cambiamenti di direzione e fermate. Infine hanno osservato come questi cavalli lavoravano ad una frequenza cardiaca <75% della loro HR_{max} per il 44±7% della durata della competizione (<159 battiti/minuto), a frequenze comprese tra 75-90% della loro HR_{max} per il 39±8% (159-191 battiti/minuto) e >90% della loro HR_{max} per il 17±8% (159-191 battiti/minuto). Considerato che la soglia anaerobica corrisponde a circa 150-170 battiti/minuto, questi valori rispecchierebbero il tipo di carburante energetico utilizzato dai cavalli nelle gare di polo: per circa il 55% il cavallo fa ricorso al metabolismo anaerobico e per il 45% a quello aerobico.

Considerando i tempi di recupero della frequenza cardiaca dopo lo sforzo fisico come indice di fitness del cavallo, possiamo riconoscere che i soggetti osservati nel nostro

studio dimostravano un buon allenamento e un'ottima risposta fisiologica allo stress da Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 86

esercizio. Infatti il valore registrato al tempo T2 è risultato significativamente più basso rispetto a quello registrato all'uscita dal campo (T1) con valori prossimi al range di normalità. Anche il soggetto (*Lola*) che ha manifestato un episodio di flutter diaframmatico al tempo T1 del terzo giorno, con una frequenza cardiaca di 104 battiti/minuti, già al tempo T2 mostrava segni di ripresa e frequenza cardiaca di 48 battiti/minuto; tuttavia al quarto giorno del torneo, il soggetto è stato ritirato dalla gara perché manifestava una leggera depressione del sensorio anche se frequenza cardiaca, mucose, tempo di riempimento capillare e valori di laboratorio erano tuttavia nella norma.

Basandoci sul confronto tra la frequenza cardiaca media ottenuta nel nostro studio dopo 30 minuti di riposo (48 battiti/minuto), nello studio di Craig et al nel 1985 dopo 15 minuti (62 ± 2 battiti/minuto) e nel lavoro di Marlin e Allen nel 1999 dopo 10 minuti (69 ± 10) con quella registrata da Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al (1991b) dopo 30 minuti di riposo alla fine di una gara di endurance (circa 55 battiti/minuto per i cavalli qualificati e circa 80 battiti/minuto per quelli squalificati) e quelle ottenute, sempre in gare di endurance, da Santos et al (2001) ($82 \pm 5,2$ e $60 \pm 11,8$ a fine gara e a 30 minuti di riposo in cavalli non allenati e $75 \pm 3,8$ e $56 \pm 5,7$ a fine gara e a 30 minuti di riposo in cavalli regolarmente sottoposti a programmi di allenamento), potremmo supporre che i cavalli da polo, pur essendo sottoposti ad un lavoro che è stato definito più intenso rispetto a quello richiesto nell'endurance, abbiano dei tempi di recupero migliori.

Lo stato più o meno congesto (grado B) delle mucose, osservato alla visita clinica effettuata al tempo T1, era indicativo della policitemia, dell'eccitazione e della vasodilatazione periferica. In alcuni soggetti alla congestione si sovrapponeva una

colorazione bluastra (grado C) indicativa di uno stato ipossico che si è sempre dimostrato reversibile.

Lievi segni di disidratazione (\bar{x} 1.7700±0.1311) si manifestavano con riduzione dell'elasticità cutanea e allungamento del tempo di riempimento capillare, che nella maggior parte dei casi già andavano risolvendosi al tempo T2, o quanto meno non mostravano ulteriore aggravamento. Tale disidratazione è stata poi confermata dall'aumento delle proteine totali e dell'ematocrito. La variazione delle proteine totali, passate da un valore medio pari a 6.9221±0.09320 g/dl al tempo T0 ad un valore di 7.5444±0.09437 g/dl al tempo T1, con una differenza di 0,6223 g/dl, non raggiunge il 9% rispetto al valore iniziale, suggerendo che la sudorazione in atto determinava solo una leggera riduzione del volume plasmatico. In base ai risultati rilevati ed al loro confronto con quanto presente in bibliografia su altre discipline sportive (Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, 1991; Santo set al, 2001; Snow, 1990b) possiamo definire le competizioni di polo, sulla base delle movimentazioni di fluidi, più vicine alle gare di galoppo piuttosto che a quelle di endurance. Infatti gli sport aerobici di lunga durata, in cui i cavalli manifestano sudorazione profusa per lungo tempo, predispongono maggiormente agli stati di disidratazione rispetto alle attività massimali effettuate per brevi periodi come può essere una corsa di galoppo (McKeever, 2004).

La policitemia relativa che hanno manifestato tutti i cavalli subito dopo l'esercizio, testimoniata dall'aumento dell'RBC, dell'Hct e dell'Hgb, è stata sia una conseguenza della spremitura della milza, che può immettere in circolo fino a 12 litri di sangue nel torrente circolatorio con lo scopo di migliorare l'ossigenazione dei muscoli, innalzare la soglia anaerobica e limitare di conseguenza l'aumento del lattato (Persson, 1967; Marlin e Nankervis, 2002) sia, in minima parte, una conseguenza dell'emoconcentrazione dovuta alla perdita di liquidi con la sudorazione (McKeever et al, 1993a). L'ematocrito

è passato da un valore medio di 40.5710 ± 1.2022 registrato al tempo T0 ad un valore di 61.4961 ± 1.2354 al tempo T1, con una variazione pari a circa il 51,6%. Facendo un confronto con altre tipologie di sport equestri, possiamo dire che i valori ottenuti nel nostro studio sono simili a quelli osservati da Snow et al (1983a) nelle corse, dove sono state registrate variazioni di circa 45% e 48% rispetto al valore precedente all'esercizio, e nettamente superiori ad altri sport come l'endurance, dove sono state registrate variazioni del 21,6% (Deldar et al, 1982), o variabili tra 27,5%, 28,2%, 43,9% a seconda che i cavalli fossero stati qualificati o squalificati rispettivamente per zoppia o per mancato recupero della frequenza cardiaca (Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, 1991b). Nella fase di Cross Country di una competizione di Driving Trial, i valori dell'Hct risultavano intermedi tra quelli delle corse, e quelli dei cavalli classificati nell'endurance (Snow, 1990b). In un lavoro eseguito su treadmill è stato osservato un aumento dell'Hct pari a 35,4% quando la velocità dell'esercizio era pari a 9 m/s, e un aumento del 43,9% per velocità di 13 m/s (Geor et al, 1994). Risultati simili sono stati registrati da Smith et al (1989). Risulta quindi che gli esercizi massimali eseguiti ad alte velocità determinano variazioni importanti dell'ematocrito, mentre gli esercizi di resistenza con caratteristiche submassimali producono variazioni minori di questo parametro. In base ai dati da noi rilevati, il polo presenta caratteristiche, in tal senso, che lo avvicinano più alle corse in piano piuttosto che agli esercizi di lunga durata, come l'endurance. I nostri valori risultano, tuttavia, più elevati rispetto a quelli ottenuti su cavalli da polo da Craig et al (1985) e Adeyefa et al (1987). Il motivo di questa discrepanza potrebbe essere legato al diverso grado di condizionamento dei cavalli utilizzati (miglior allenamento dei nostri soggetti, maggior sforzo fisico richiesto per l'acclimatazione,...). Il rapido ripristino dell'Hct registrato dopo 30 minuti di riposo (differenza tra T1 e T2 altamente significativa con $p < 0.001$), determinato dal ri-

sequestro dei globuli rossi ad opera della milza (Munoz et al, 1996), rappresenta un

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 89

buon indice dell'adattamento funzionale dell'apparato cardiocircolatorio e dell'organismo alla situazione di stress fisico-metabolico. Se il restauro del Hct non avviene completamente, segno di mancato recupero, è necessario provvedere con opportune terapie reidratanti per evitare le conseguenze legate all'aumento persistente della viscosità ematica, come ipertensione, ipossia tissutale, trombosi ed emorragie (Harris et al, 1998).

A differenza di molti altri lavori scientifici che descrivono variazioni degli indici eritrocitari (MCV, MCHC, MCH) legate ad esercizi di endurance e di galoppo, non abbiamo riscontrato variazioni statisticamente significative nei cavalli da polo tra i tempi T0, T1 e T2. Al contrario, appare interessante osservare l'aumento altamente significativo dell'MCV e la diminuzione significativa dell'MCH e dell'MCHC, accompagnate da una diminuzione del Hgb, tra il primo e l'ultimo giorno di gara valutato ai tempi T0, con una differenza media tra i due valori dell'MCV di quasi 10 fl (aumento del 19% rispetto alla dimensione iniziale). L'aumento dell'MCV ha interessato tutti i 12 cavalli considerati. Pur non potendo definire con precisione la causa di quest'alterazione, è possibile fare delle ipotesi in merito. Tra le varie cause che possono determinare un aumento del volume globulare vanno segnalati i cambiamenti del pH e dell'osmolalità plasmatici, come osservato da Van Beaumont et al (1981). In particolare un aumento significativo dell'MCV dopo esercizi massimali su treadmill è stato associato ad aumenti delle concentrazioni di potassio e cloro intraeritrocitari e riduzioni della densità eritrocitaria (indicata da una riduzione dell'MCHC), suggestivi di rigonfiamento cellulare (Geor et al, 1994). I globuli rossi sembrano agire come dei veri e propri tamponi contro gli aumenti plasmatici di potassio e le diminuzioni del pH ematico, grazie al passaggio del potassio all'interno della cellula e allo scambio tra ioni bicarbonato e ioni cloro. Tutto ciò ha come conseguenza un aumento delle

performances ma un rigonfiamento della cellula (Weiss ed Evanson, 1997). Il
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 90

rigonfiamento dei RBC riduce il rapporto superficie/volume cellulare e quindi la deformabilità cellulare con conseguente stress delle pareti dei capillari. Questa potrebbe rappresentare una delle cause responsabili della rottura dei capillari associata all'emorragia polmonare indotta dall'esercizio (Weiss ed Evanson, 1997; Weiss e Smith, 1998). Il dato che potrebbe contrastare con questa ipotesi è la variazione significativa dell'MCH (quantità media di emoglobina contenuta all'interno dell'eritrocita) che, se i RBC fossero solo rigonfi, non sarebbe dovuto diminuire, come invece è avvenuto nel nostro caso. Un'altra possibile causa di aumento dell'MCV, rafforzata questa volta dalla diminuzione dell'MCHC e dell'MCH, sarebbe l'immissione in circolo di reticolociti. I globuli rossi immaturi contenenti RNA, noti come reticolociti, sono contenuti nel midollo osseo e, a differenza del cane e del gatto, nel cavallo non sono comunemente presenti in circolo nei soggetti sani o lievemente anemici (Fernandez e Grindem, 2000). Fino a poco tempo fa, i vecchi contaglobuli e le metodiche manuali di colorazione non permettevano di evidenziare i reticolociti nei cavalli anche in presenza di gravi stati anemici. Gli unici dati utilizzati per riconoscere gli stati di rigenerazione eritrocitaria erano dati dalla valutazione del volume corpuscolare e dalla biopsia midollare (Lumsden et al, 1975a; Lumsden et al, 1975b; Easley, 1985; Radin et al, 1986; Malikides et al, 1999; Malikides et al, 2000). Oggi, con l'aumentata sensibilità dei moderni analizzatori automatici che utilizzano la citometria a flusso, i reticolociti possono essere individuati nel circolo periferico dei cavalli affetti da gravi stati anemici (Weiss e Moritz, 2003). Nel nostro caso, i dati che potrebbero andare contro questa ipotesi sono rappresentati da una riduzione significativa, anche se minima, dell'RDW tra il primo e l'ultimo giorno di gara, e dall'assenza di uno stato anemico grave necessario per stimolare la liberazione dei reticolociti nel circolo sanguigno. Un'altra condizione che può determinare la liberazione di reticolociti nel sangue

(Cooper et al, 2005). Consideriamo questa ipotesi improbabile in base ai rilevamenti anamnestici, alla costanza della variazione che si è ripetuta in tutti i soggetti valutati, appartenenti a tutti i teams e all'assenza di altri possibili effetti indotti dall'ormone, quali per esempio, la piastrinocitosi. Va sottolineato che le modificazioni dell'MCV registrate nei lavori precedenti su varie tipologie di esercizio riguardavano i prelievi pre e post esercizio ed erano sempre molto limitate, non superando mai i 3-4 fl (Boucher et al, 1981; Smith et al, 1989; Snow, 1990; Geor et al, 1994; Munoz et al, 1996; Pellegrini Masini et al, 2000), mentre nella nostra esperienza si parla di variazioni molto più elevate, rilevate tra i tempi T0 del primo e dell'ultimo giorno di gara, con una media di 10 fl. Tali variazioni, se legate ad un rigonfiamento cellulare, dovrebbero probabilmente essere indicative di una condizione estremamente grave che non verrebbe confermata dalla situazione clinica normale dei soggetti. Inoltre, la media delle dimensioni dei globuli rossi osservata l'ultimo giorno di gara al tempo T0 (60.6668 ± 0.8934) è sicuramente compatibile con le dimensioni tipiche dei reticolociti di cavallo (Cooper et al, 2005). Mancando i dati sull'osmolalità plasmatica e sulla concentrazione elettrolitica del siero e non essendo stato fatto uno studio sui reticolociti mediante lettura dello striscio ematico con colorazioni di routine e specifiche, nè per mezzo di contaglobuli più sofisticati, è possibile considerare quelle appena descritte solo come possibili ipotesi che richiedono ulteriori approfondimenti per essere chiarite.

Le variazioni ematologiche osservate riguardano, oltre la componente eritrocitaria, anche i globuli bianchi. In particolare è stato osservato un aumento significativo, subito dopo l'uscita dal campo, della conta leucocitaria totale ($p < 0.05$) attribuibile all'aumento della classe linfocitaria ($p < 0.001$).

La risposta leucocitaria che si manifesta durante l'esercizio dipende dall'intensità e dalla durata dello sforzo. Subito dopo un lavoro breve ed intenso, come accade nelle

corse, non si osserva un aumento considerevole del WBC, ma una riduzione del

Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari

rapporto N/L provocato dall'aumento transitorio del numero dei linfociti. Questo tipo di risposta è tipicamente legato alla liberazione di catecolamine ed alla contrazione della milza, che rappresenta un'importante sito di produzione linfocitaria. Dopo 3 ore dalla fine dell'esercizio questo rapporto aumenta a causa dell'incremento del numero dei neutrofilo e della riduzione del numero dei linfociti come conseguenza dell'aumento del cortisolo plasmatico e del risequestro ad opera della milza, per ritornare alla norma dopo circa 6 ore (Rossdale et al, 1982; Snow et al, 1983). Nel nostro caso abbiamo avuto una risposta simile a quella appena descritta, con un aumento significativo ma insignificante dei WBC e una diminuzione del rapporto N/L al tempo T1 ($N/L_{T0} \cong 2.35$ vs $N/L_{T1} \cong 1.85$) seguito, al tempo T2, da una riduzione dei linfociti con conseguente risalita del N/L, provocato dal loro probabile risequestro ad opera della milza ($N/L_{T2} \cong 2.38$).

Risultati simili, caratterizzati da una variazione del rapporto N/L senza alterazione del numero totale dei WBC, sono stati descritti in cavalli da corsa (Snow et al, 1983). Leggeri aumenti dei WBC provocati dall'aumento della classe linfocitaria sono stati registrati anche durante esercizi su treadmill eseguiti ad alte velocità (Smith et al, 1989). Al contrario, in competizioni di endurance e durante la fase di Cross Country di una competizione di Driving Trial, sono stati registrati aumenti del numero dei neutrofilo, indicativi di un aumento del cortisolo ematico (Snow, 1990; Rose, 1986a; Rose, 1986b). L'elaborazione statistica dei valori del WBC, dei neutrofilo, dei linfociti e del rapporto N/L ottenuti durante le quattro giornate di gara al tempo T0, non ha mostrato la comparsa di leucogrammi tipici da stress indotto da liberazione di cortisolo.

Per quanto riguarda la componente piastrinica i cavalli oggetto del nostro studio hanno presentato una diminuzione altamente significativa del loro numero (diminuzione del Plt e del Pct). Il dato, che richiede ulteriori approfondimenti, contrasta con quanto

riportato in bibliografia secondo cui l'emoconcentrazione e il rilascio di adrenalina dovrebbero provocare un aumento del numero e della reattività (Hideo et al, 1999).

I valori medi di lattato ottenuti nei nostri cavalli subito dopo e a 30 minuti dall'esercizio (T1: 10.2402 ± 0.3959 mmol/l; T2: 4.7929 ± 0.3779 mmol/l) sono risultati simili a quelli segnalati da Graig et al (1985) (9.2 ± 1.2 mmol/l e 4.1 ± 0.7 mmol/l). Confrontando i dati con quanto riportato in altre discipline subito dopo la competizione, sono risultati inferiori rispetto a quelli ottenuti in cavalli da corsa, nei quali sono facilmente riscontrabili valori superiori a 20 mmol/l (Snow et al, 1983b) ma superiori ai valori ottenuti in competizioni di endurance da Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan et al, (1991) e Deldar et al (1982) dove non superavano mai la concentrazione di 2 mmol/l nei cavalli qualificati e la concentrazione di 4 mmol/l in quelli squalificati, e ai valori ottenuti nella fase di cross country del driving trial dove non si superavano valori medi di 4,5 o 6,5 mmol/l (Snow, 1990). Valori intorno a 4 mmol/l sono stati registrati in esercizi su treadmill alle velocità di 9 m/s, e intorno a 17,9 mmol/l quando la velocità utilizzata era di 13 m/s (Geor et al, 1994). Questi risultati sono in accordo con il tipo di metabolismo energetico che prevale in ognuno di questi sport: per lo più aerobico nell'endurance, soprattutto anaerobico per la corsa in piano, mix di aerobico/anaerobico nella fase di cross country del driving trial e nel polo (Peggy Miller, Professore Associato della Animal Science Iowa State University). Inoltre, la maggior parte dei nostri soggetti ha mostrato una riduzione altamente significativa dei lattati dopo 30 minuti dalla fine dell'esercizio con valori che in alcuni casi rientravano già nel range di normalità. Ciò è stato probabilmente favorito, oltre che dal buon grado di allenamento e dal fitness dei soggetti, anche dai dieci minuti di defaticamento al passo. Tale situazione ha probabilmente favorito il catabolismo del lattato, che infatti è risultato di molto inferiore ($p < 0.001$) rispetto al valore di fine sforzo (10.2402 ± 0.3959 vs 4.7929 ± 0.3779

mmol/l). Viene così ribadita per il lattato ematico l'importanza del "restauro attivo" (defaticamento al passo) rispetto al "restauro passivo" (cavallo fermo) (Caola, 2001). Da sottolineare che negli esercizi massimali, è molto utile la valutazione dei valori di lattato ematico dopo un adeguato periodo di recupero per caratterizzare il grado di affaticamento dell'animale; la persistenza di alte concentrazioni ematiche di lattato potrebbe suggerire uno stato di affaticamento dell'animale. Al contrario, la concentrazione del lattato subito dopo la fine dello sforzo dà indicazioni solo sul tipo di metabolismo utilizzato durante l'esercizio (Pösö et al, 2008).

I dati riguardanti l'attività degli enzimi muscolari sono stati raccolti per cercare eventuali variazioni significative sia tra i tempi pre-gara e post-gara (variazione tra T0, T1, T2 nella stessa giornata), sia tra i tempi pre-gara dei quattro giorni del torneo. Questa scelta è legata al fatto che il picco ematico viene raggiunto dopo 4-12 ore dall'eventuale insulto muscolare per la CK e dopo 24 ore per l'AST e l'LDH. Nel nostro caso non sono state evidenziate aumenti tra i tempi T0, mentre differenze significative hanno riguardato la CK e l'LDH tra i prelievi fatti prima e dopo la gara. Tuttavia i valori ottenuti dopo la gara non si discostavano particolarmente da quelli precedenti alla gara e, comunque, rimanevano all'interno del range di riferimento. Benché il maggior problema nella valutazione del loro incremento in seguito ad un esercizio fisico è quello di discriminare tra un aumento funzionale e fisiologico e un cambiamento patologico (Munoz et al, 2002), potremmo in questo caso sospettare che i lievi aumenti registrati siano proprio una risposta fisiologica all'attività fisica. Tra i criteri suggeriti da Harris et al (1998) per definire una variazione degli enzimi muscolari come fisiologica risposta ad un esercizio intenso vi sono: 1. i valori della CK non devono superare il doppio del loro valore a riposo nelle 2-4 ore dopo l'esercizio; 2. le CK devono tornare a valori normali dopo 24 ore; 3. l'aumento delle AST non deve superare il 50% del valore iniziale; 4. i cavalli non devono presentare segni di rigidità.

La riduzione della concentrazione ematica di calcio, di fosforo e di magnesio dopo l'esercizio potrebbe essere legata all'aumento delle richieste di tali elettroliti da parte delle cellule muscolari per sopperire alle richieste energetiche o, in minor misura per alcuni di loro, alle loro perdite attraverso il sudore (Rose et al, 1980; Pearson e Dijkman, 1994). Il sudore del cavallo, infatti, contiene grandi quantità di Na, K, Cl, Ca e Mg. Tuttavia, la perdita di elettroliti tramite il sudore è un evento che interessa maggiormente le gare di resistenza e di lunga durata, come l'endurance, piuttosto che gli esercizi massimali di breve durata (Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1991b; Santos et al, 2001). A conferma di ciò va sottolineato che, nella nostra esperienza, il calcio e il fosforo risultavano comunque all'interno del range di riferimento. La riduzione della concentrazione ematica di calcio e fosforo durante una competizione di polo erano già state segnalate da Craig et al (1985).

6. CONCLUSIONI

Se da un lato non possiamo negare che il gioco del polo sia un esercizio che richiede uno sforzo da moderato ad elevato del sistema cardiovascolare e muscolare, possiamo affermare che i cambiamenti fisici e di laboratorio, osservati nei cavalli presi in considerazione nel nostro studio, non erano indicativi di sofferenza ed esaurimento dei soggetti, ma solo di un adattamento allo stress da esercizio. Lo stimolo stressante non si è dimostrato superiore alle capacità atletiche dei cavalli, confermando un ottimo grado di allenamento, e non sono comparsi i segni di *distress* che caratterizzò gli sforzi eccessivi e prolungati. Ciò è dimostrato sia dalla tendenza di alcuni parametri, come la frequenza cardiaca, l'ematocrito e il lattato, a ritornare alla normalità già dopo 30 minuti di defaticamento attivo al passo, mostrando dei tempi di recupero sorprendenti, sia dal fatto che la maggior parte dei valori, pur subendo variazioni significative subito dopo la fine dell'esercizio, non si discostavano comunque dai range di riferimento fisiologici. Nessun soggetto ha manifestato sintomi legati a squilibri omeostatici, sintomi di esaurimento metabolico o sintomi di patologie muscolari riferibili alla partecipazione alla competizione sportiva, e non è stato necessario sottoporre nessuno dei cavalli presi in esame a terapie farmacologiche di alcun genere. L'unico cavallo che ha manifestato segni di malessere (*Lola*), in realtà aveva probabilmente una situazione predisponente in atto, come facevano supporre i dati di laboratorio. Il soggetto è stato inoltre ritirato dalla competizione, rispettando in questo modo la salvaguardia del benessere dell'animale. È chiaro che il ritiro del cavallo poteva essere legato anche a motivi di riduzione della performance che potevano ostacolare il buon esito della partita per la squadra partecipante.

Infine, sulla base delle variazioni osservate all'esame fisico, ematologico ed ematochimico nel nostro studio e al loro confronto con quanto riportato in bibliografia

su altre competizioni sportive del cavallo, possiamo affermare che il tipo di sforzo
Rosanna Zobba_Valutazione di alcuni parametri fisici, ematologici e biochimici come indicatori dello stato di benessere nei cavalli da polo_tesi di Dottorato in Riproduzione, Produzione e Benessere Animale_Università degli Studi Sassari 97

fisico-metabolico richiesto dal gioco del polo si discosta in maniera netta da quegli sport equestri come l'endurance, che richiedono caratteristiche di resistenza più che di potenza, mentre presenta qualche affinità in più con quello imposto dalla corsa in piano, anche se caratterizzato da frequenti variazioni di intensità dello sforzo fisico, poiché il galoppo è spesso interrotto da fermate, cambiamenti di direzione accelerazioni e decelerazioni. Si potrebbe pensare quindi che le informazioni ricavate su cavalli da polo siano un modello di studio per esercizi di intensità e durata intermedia. Peggy Miller, Professore Associato della Animal Science Iowa State University, afferma che i cavalli da corsa lavorano prevalentemente con un metabolismo anaerobico (che va dal 60% al 98% dell'energia totale prodotta in base alla lunghezza del percorso), i cavalli da endurance lavorano perlopiù in aerobiosi (il 98% dell'energia prodotta proviene da un metabolismo aerobico) e i cavalli da polo producono in media il 55% di energia anaerobica e il 45% aerobica.

Va sottolineato che fattori esterni quali la temperatura, la ventilazione e l'umidità ambientale possono influenzare l'intensità dello sforzo richiesto, per cui le osservazioni scaturite devono necessariamente tener conto di tali variabili soprattutto nel momento in cui si cerca di definire il grado di stress indotto da una particolare attività sportiva.

Da un punto di vista puramente pratico va sottolineato che durante un vero torneo di polo, quale era quello del nostro studio, alle difficoltà legate all'interpretazione dei dati ottenuti si devono aggiungere le difficoltà incontrate nella raccolta dei campioni, che dovevano essere effettuati senza disturbare la competizione in atto ma, allo stesso tempo, senza commettere errori.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Adeyefa CAO, Akinrinmade JF, Fajimi JL – Haematological and serum biochemical changes in polo horses in Nigeria – Bull Anim Hlth Prod Afr, 1987, 35: 350-355
2. Aguilera-Tejero E, Estepa JC, Lopez I, Bas S, Mayer-Valor R, Rodriguez M – Quantitative analysis of acid-base balance in show jumpers before and after exercise – Res Vet Sci, 2000, 68: 103-108
3. Anderson MG - The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse - Equine Vet J, 1975, 45 (4): 361-370
4. Andrews FM, Geiser DR, White SL et al - Haematological and biochemical changes in horses competing in a 3 star horse trial and 3-day-event - Equine Vet J, 1995, 20:57–63
5. Archer RK, Miller WC – the interpretation of haematological examinations in Thoroughbred horses – Vet Res, 1959, 71: 273-277
6. Archer RK - Haematology in relation to performance and potential. I. A general Review – J S Afr vet Ass, 1974, 45: 273-77;
7. Art T, Desmecht D, Amory H et al - A field study of post-exercise values of blood biochemical constituents in jumping horses: relationship with score, individual and event - J Vet Med A, 1990, 37: 231–239
8. Bayly WM, Meyers KM, Keck MT et al – Exercise-induced alterations in haemostasis in Thoroughbred horses. - In: Snow DH, Persson SDG, Rose, eds. Equine exercise physiology. Cambridge: Granta Editions; 1983, 336-342
9. Balogh N, Gaál T, Ribiczeyné PS et al - Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. - Vet Clin Pathol, 2001, 30:214–218
10. Betros CL, MC Keever KH, Kearns CF, Malinowski K 2002 effect of ageing and training on maximal heart rate and VO_{2max} Equine Vet Journal (Suppl) 34: 100-105

11. Bjotvedt G, Weems CW, Foley K - Strenuous exercise may cause health hazards for racing Greyhounds - *Vet Med Small Anim Clin*, 1984, 79: 1481–1487
12. Booth FW, Thomason DB - Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: Perspectives of various models - *Physiol Rev*, 1991, 71: 541–585
13. Boyd JW - The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals - *Vet. Clin Pathol*, 1985, 12: 9- 25
14. Boucher JH, Ferguson EW, Wilhelmsen CL et al - Erythrocyte alterations during endurance exercise in horses- *J Appl Physiol*, 1981, 51:131–134
15. Boucher JH – The equine spleen source of dangerous red blood cells – *J Equine Vet Sci*, 1987, 7: 140-142
16. Câmara E Silva IA, Dias RVC, Soto-Blanco B - Determinação das atividades séricas de creatinina quinase, laccato desidrogenase e aspartato aminotransferase em eqüinos de diferentes categorias de atividade - *Arq Bras Med Vet Zootec*, 2007, 59: 250-252
17. Caola G - *Fisiologia dell'esercizio fisico del cavallo - I edizione Edagricole, Bologna 2001*
18. Cardinet III GH, Skeletal muscle function. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Eds) - *Clinical biochemistry of domestic animals - 5ed New York: Academic, 1997, 407-440*
19. Carlson GP – Haematological alterations in endurance trained horses – *Proceedings of the 1st Interantional Symposium on Equine Haematology, Michigan, USA, 1975, 444-449*
20. Carlson GP - Hematology and body fluids in the equine athlete: A review. In: Gillespie JR, Robinson NE, eds. *Equine Exercise Physiology vol. 2. Davis CA: ICEEP Publications, 1987, 393-425*
21. Casaux-Alsina I, Catalano JC – Assesment of trainig in polo ponies from the cardiopulmonary responses to various levels of exercise – *Revista Militar de Veterinaria*, 1978, 25: 86-94

22. Clarkson PM, Ebbeling C - Investigation of serum creatine kinase variability after muscle damaging exercise - Clin. Sci, 1988, 75: 257-261
23. Catling SJ – PhD thesis, University of Cambridge 1978
24. Cooper C, Sears W, Bienzle D - Reticulocyte changes after experimental anemia and erythropoietin treatment of horses - J Appl Physiol, 2005, 99: 915-921
25. Craig L, Hintz HF, Soderholm LV, Shaw KL, Schryver HF - Changes in blood constituents accompanying exercise in polo horses - Cornell Vet, 1985, 75: 297–302
26. Da Cás EL, Rosauero AC, Silva CAM et al - Concentração sérica das enzimas creatinoquinase, aspartato aminotransferase e hidrogenase láctica em eqüinos da raça crioula - Cien Rural, 2000, 30: 625-629
27. Deldar A, Fregin FG, Bloom JC, Davanipour Z – Changes in selected biochemical constituents of blood collected from horses participating in a 50-mile endurance ride – Am J Vet Res, 1982, 43: 2239-2243;
28. Derman KD, Noakes TD - Comparative aspects of exercise physiology. In: Hodgson DR, Rose RJ, (eds) - The Athletic Horse - Philadelphia, PA, Saunders; 1994, 13–25
29. Dickinson PJ, Sullivan M - Exercise induced hyperthermia in a racing Greyhound - Veterinary Record, 1994, 135: 508
30. Donovan CM, Brooks GA - Endurance training affects lactate clearance not lactate production - Am J Physiol, 1983, 244: 83-92
31. Dybdal NO, Gribble D, Madigan JE, Stabenfeldt GH – Alterations in plasma corticosteroids, insulin and selected metabolites in horses used in endurance rides – Equine Vet J, 1980, 12: 137-140
32. Easley JR - Erythrogram and red cell distribution width of Equidae with experimentally induced anemia - Am J Vet Res, 1985, 46: 2378-2384
33. Eaton MD, Energetics and performance. In: Hodgson DR, Rose RJ, editor - The Athletic Horse - Philadelphia, PA, Saunders; 1994, 49-61

34. Eaton MD, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ - Maximal accumulated oxygen deficit in Thoroughbred horses – J Appl Physiol, 1995, 78: 1564-1568
35. Eaton MD, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ - The effect of treadmill incline and speed on metabolic rate during exercise in Thoroughbred horses - J Appl Physiol, 1995, 79: 951-957
36. Escribano BM, Castejón FM, Vivo R et al - Respuesta hemática en potros Pura Raza Española sin entrenar sometidos a un ejercicio de intensidad creciente (“Hematological response in untrained Andalusian horses during an incremental exercise test”)- Med Vet, 1995, 12: 257–265
37. Evans DL, Rose RJ - Determination and repeatability of maximum oxygen uptake and other cardiorespiratory measurements in the exercising horse - Equine vet J, 1988, 20:94-98
38. Evans DL, Rainger JE, Hodgson DR, Eaton MD, Rose RJ - The effect of intensity and duration of training on blood lactate concentrations during and after exercise. In: Equine Exercise Physiology 4. Proc. 4th International Conference on equine Exercise Physiology, ed. Robinson, N.E., R and W Publications, Newmarket UK, Equine Vet. J. 1995, (Suppl), 18: 422-425.
39. Evans DL - Training and fitness in athletic horses - Rural Industries Research and Development Corporation. 2000
40. Fernandez FR, Grindem CB - Reticulocyte response - In: Schalm’s Veterinary Hematology, edited by Feldman BF, Zinkl JG, and Jain NC. Philadelphia, PA: Lipincott, 2000, 110-116
41. Fitts RH - Cellular mechanisms of muscle fatigue - Physiol Rev, 1994, 4: 49-94
42. Flaminio MJ, Rush BR - Fluid and electrolyte balance in endurance horses – Vet Clin North Am Equine Pract, 1998, 14(1): 147-58

43. Foreman JH, Bayly WM, Grant BD, Gollnick PD - Standardized exercise test and daily heart rate responses of Thoroughbreds undergoing conventional race training and detraining – *Am J Vet Res*, 1990, 51: 914-920
44. Foreman JH, Lawrence LM - Lameness and heart rate elevation in the exercising horse - *Journal of Equine Veterinary Science*, 1991, 11: 353-356
45. Fox MW – Philosophy and ethics in Ethology – In: Fraser AF, Ed: *World Animal Science Ethology of farm animals*, Elsevier, New York, 1985: 27
46. Fox G, Henckel P, Juel C, Falk-Rønne J, Saltin B - Skeletal muscle buffer capacity changes in Standardbred horses: effects of growth and training - In: Gillespie JR, Robinson NE, (eds). *Equine Exercise Physiology 2*. Davis, CA, ICEEP Publications, 1987: 341-347
47. Fraser D, Ritchie JS, Fraser AF – The term stress in veterinary context - *Br Vet J*, 1990, 131: 653-662
48. Fraser AF, Broom DM – Welfare measurement – In: Fraser AF and Broom DM Ed *farm animal behaviour and welfare*. III ed Bailliere Tindall, London 29, 1990, 266-269
49. Freeman DW - *Physical Conditioning of Horses* - Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. Sito web: <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-5466/ANSI-3983web.pdf>
50. Freeman DW - *Monitoring Fitness of Horses by Heart Rate* - Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. Sito web: <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-2078/ANSI-9118web.pdf>
51. Geor RJ, Weiss DJ, Smith CM - Hemorheologic alterations induced by incremental treadmill exercise in Thoroughbreds - *Am J Vet Res*, 1994, 55: 854-861
52. Geor RJ, McCutcheon LJ, Lindinger MI – Adaptations to daily exercise in hot and humid ambient conditions in trained Thoroughbred horses – *Equine Vet J (Suppl)*, 1996, 22: 63-68

53. Geor RJ, McCutcheon LJ – Hydration effects on physiological strain of horses during exercise-heat stress – J Appl Physiol 1998, 84: 2042-2051
54. Geor RJ, Hinchcliff KW, Sams RA - β -Adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise – J Appl Physiol, 2000, 89: 1086-1098
55. Gonzalez-Alonso J - Hyperthermia impairs brain, heart and muscle function in exercising humans - Sports Medicine, 2007, 37: 371-375
56. Greenleaf JE, Morimoto T – Mechanism controlling fluid ingestion: thirst and drinking. In: Bushkirk ER, Puhl SM, eds. Body fluid balance: exercise and sport. New York: CRC Press, 1996: 3-17
57. Grosskopf JFW, Van Rensburg JJ, Bertschinger HJ. In: Snow DH, Persson SGB, Rose RJ (eds) Haematology and blood biochemistry of horses during a 210 km endurance ride. Equine Exercise Physiology. Granta Editions, Cambridge, 1983, 416–423
58. Hanzawa K, Kubo K, Kai M et al - Effects of exercise on erythrocytes in normal and splenectomised Thoroughbred horses - Equine Vet J, 1995, 18: 439-442
59. Hanzawa Kei, Watanabe Seiki - Changes in osmotic fragility of erythrocytes during exercise in athletic horses - Journal of Equine Veterinary Science, 2000, 11(3): 51-61
60. Harkins JD, Hintz HF, Eldredge DL, Schreter V, Soderholm V – Effect of detraining on indices of performance and their correlation with athletic ability of polo horses – J Equine Vet, 1993, 13: 348-354
61. Harris RC, Snow DH, Katz A, Sahlin K - Effect of freeze-drying on measurements of pH in biopsy samples of the middle gluteal muscle of the horse: comparison of muscle pH to the pyruvate and lactate content - Equine vet J, 1989, 21: 45-47
62. Harris PA - Muskuloskeletal disease - In: REED SM, BAYLY WM (Eds). Equine internal medicine. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998, 375-397

63. Harrison MH – Effects on thermal stress and exercise on blood volume in humans –
Physiol Rev, 1985, 65: 149-209
64. Hideo I, Tomomi T, Shoko N, Takanori N, Sadahiro W, Yasuto S, Shukoh H, Takashi U, Junji S, Junichiro Y – Norepinephrine, but not epinephrine, enhances platelet reactivity and coagulation after exercise in humans – J Appl Physiol, 1999, 86: 133-138
65. Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – Equine sports medicine and surgery - Philadelphia: W.B. Saunders, 2004
66. Hodgson DH - Energy considerations during exercise. - In Rose RJ (ed) Vet Clinics of North America, Equine Practice , vol 3 Philadelphia , PA, W.B. Saunders Co., 1985
67. Hodgson DR, Davis RE, McConaghy FF - Thermoregulation in the horse in response to exercise - Br Vet J, 1994a, 150: 219-235
68. Hodgson DR, Rose RJ eds - The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine - Philadelphia: WB Saunders, 1994b, 181-204
69. Hubbell JAE, Hinchcliff KW, Muir WW, Robertson JT, Sams RA, Schmall LM – Cardiorespiratory and metabolic effects of walking, standing, and standing with a splint during the recuperative period from maximal exercise in horse – Am J Vet Res, 1997, 58: 1003-1009
70. Hyypää S, Pösö AR - Fluid, electrolyte, and acid-base responses to exercise in racehorses - Vet Clin NA: Equine Pract 1998; 14: 121-136
71. Johnstone IB, Viel L, Crane S, Whiting T- Haemostatic studies in racing Standardbred horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. Hemostatic parameters at rest and after moderate exercise - Can J Vet Res 1991, 55: 101-106
72. Jones WE - Equine Sports Medicine - Philadelphia, PA, Lea & Febiger, 1989, 121-136
73. Juel C - Lactate/proton co-transport in skeletal muscle: regulation and importance for pH homeostasis - Acta physiol scand, 1997; 156: 369-374

74. Kearns CF, McKeever KH, John-Alder H, Abe T, Brechue WF - Relationship between body composition, blood volume and maximal oxygen uptake - *Equine Vet J*, 2002 (Suppl), 34: 485-490
75. King CM, Evans DL, Rose RJ - Cardiorespiratory and metabolic responses to exercise in horse with various abnormalities of the upper respiratory tract - *Equine Vet J*, 1994, 26: 250-255
76. Kingston JK, Bayly WM - Effect of exercise on acidbase status of horses - *Vet Clin NA: Equine Pract*, 1998; 14: 61-73
77. Kingston JK, McCutcheon LJ, Geor RJ – Comparison of three methods for estimation of exercise-related ion losses in sweat of horses – *Am J Vet Res*, 1999, 60: 1248-1254
78. Kingston JK, Geor RJ, McCutcheon LJ – Rate and composition of sweat fluid losses are unaltered by hypohydration during prolonged exercise in horses – *J Appl Physiol*, 1997, 83: 1133-1143
79. Kingston JK – Hematologic and serum biochemical responses to exercise and training – In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – *Equine sports medicine and surgery* - Philadelphia: W.B. Saunders, 2004
80. Kozłowski S, Brzezinska Z, Krub B, Kaciuba-Uscilko H, Greenleaf JE, Nazar K - Exercise hyperthermia as a factor limiting physical performance: temperature effect on muscle metabolism – *J Appl Physiol*, 1985, 59: 766-773
81. Krzywanek H, Wittke G, Bayer A, Borman P – The heart rates of Thoroughbred horses during a race – *Equine Vet J*, 1970, 2: 115-117
82. Krzywanek H, Mohr E, Mill J, Scharpenack M - Veränderungen von Serumenzymen, Lactat und Hämoglobin konzentrationen im Blut Junger Trabrennpferde durch Trainingsbelastung - *J Vet Med A*, 1996, 43: 345-352

83. Lang F, Busch GL, Ritter M, Volkl H, Waldegger S, Gulbins E, Haussinger D - Functional significance of cell volume regulatory mechanisms - *Physiol Rev* - 1998; 78: 247-306
84. Langsetmo I, Weigle GE, Fedde MR, Erickson HH, Barstow TJ, Poole DC - VO2 kinetics in the horse during moderate and heavy exercise - *J Appl Physiol*, 1997, **83**: 1235-1241
85. Lepherd EE - Effect of exercise on platelet size and number - *Vet Record*, 1977, 101: 488
86. Lindingr MI, Ecker GL – Ion and water losses from body fluids during a 163 Km endurance ride – *Equine Vet J (Suppl)*, 1995, 18: 314-322
87. Lovell DK, Reid TA, Rose RJ - Effects of maximal exercise on equine muscle: changes in metabolites, pH and temperature - In: Gillespie JR, Robinson NE, (eds). *Equine Exercise Physiology 2*. Davis, CA, ICEEP Publications, 1987, 312–320
88. Lovell DK, Rose RJ – Effect of postexercise activity on recovery from maximal exercise – *Equine Vet J*, 1995, 18 (Suppl): 188-190
89. Lumsden JH, Valli VE, McSherry BJ, Robinson GA, and Claxton MJ - The kinetics of hematopoiesis in the light horse. II. The haematological response to hemorrhagic anemia - *Can J Comp Med*, 1975a, 39: 324-331
90. Lumsden JH, Valli VE, McSherry BJ, Robinson GA, and Claxton MJ - The kinetics of hematopoiesis in the light horse. III. The haematological response to hemolytic anemia - *Can J Comp Med*, 1975b, 39: 333-339
91. MacLeay JM, Sorum SA, Valberg SJ, Marsh WE, Sorum MD – Epidemiological analysis of factors influencing exertional rhabdomyolysis in Thoroughbred – *American Journal of Veterinary Research*, 1999, 60: 1562-1566
92. MacLeay JM - Disease of the musculoskeletal system - In Bayly WM, Sellon DC, *Equine Internal Medicine*, 2nd Edition. Reed SM, Saunders 2004, 461-522

93. Malikides N, Kessell A, Hodgson JL, Rose RJ, and Hodgson DR - Bone marrow response to large volume blood collection in the horse - Res Vet Sci, 1999, 67: 285-293
94. Malikides N, Mollison PJ, Reid SW, and Murray M - Haematological responses of repeated large volume blood collection in the horse - Res Vet Sci, 2000, 68: 275-278
95. Marlin DJ, Harris RC, Harman JC, Snow DH – Influence of post exercise activity on rates of muscle and blood lactate disappearance in the Thoroughbred horse - In: Gillespie JR 2. Davis, CA: IEEP Publications, 1987, 321-331
96. Marlin DJ, Harris PA, Schroter RC, Harris RC, Roberts CA, Scott CM; Orme CE, Dunnet M, Dyson SJ, Barrelet F, Williams B, Marr CM, Casas I – Physiological, metabolic and biochemical responses of horses competing in the speed and endurance phase of a CCI****3-day-event – Eqine Vet J, 1995, 20: 37-46
97. Marlin D, Nankervis K - Equine Exercise Physiology - Ed. Blackwell Garsington Rd, 2000, 296
98. Marlin DJ, Allen CR – Cardiovascular demands of competition on low-goal (non-elite) polo ponies – Equine Vet J, 1999, 31(5): 378-382
99. McClay CB, Weiss DJ, Smith CM, Gordon B - Evaluation of hemorrheologic variables as implications for exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Thoroughbreds - Am J Vet Res, 1992, 53: 1380-1385
100. McConaghy F – Thermoregulation. – in: Hodgson DR, Rose RJ eds. The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine. Philadelphia: WB Saunders, 1994, 181-204
101. McCutcheon LJ, Kelso TB, Bertocci LA, Hodgson DR, Bayly WM, Gollnick PD - Buffering and aerobic capacity in equine muscle: variation and effect of training - In: Gillespie JR, Robinson NE, eds. Equine Exercise Physiology 2. Davis, CA, ICEEP Publications, 1987, 348-358

102. McCutcheon LJ, Geor RJ, Hare Mj et al – Sweating rate and sweat composition during exercise and recovery in ambient heat and humidity – *Equine Vet J (Suppl)*, 1995, 20: 153-157
103. McCutcheon LJ, Geor RJ – Sweat fluid and ion losses in horses during training and competition in cool vs hot ambient conditions: implications for ion supplementation – *Equine Vet J (Suppl)*, 1996, 22: 54-62
104. McCutcheon LJ, Geor RJ – Sweating. Fluid and ion losses and replacement. In: Hinchcliff KW, ed. *Veterinary clinics of North America: equine practice; fluid, electrolytes and thermoregulation in horses*. Philadelphia:WB Saunders, 1998, 14: 75-95
105. McCutcheon LJ, Geor RJ, Ecker GL et al – Equine sweating responses to submaximal exercise during 21 days of heat acclimation – *J Appl Physiol*, 1999, 87: 1843-1851
106. McCutcheon LJ, Geor RJ - Influence of training on sweating responses during submaximal exercise in horses - *J Appl Physiol*, 2000, 89: 2463-2571
107. McGowan CM, Posner RE, Christley RM – incidence of exertional rhabdomyolysis in polo horses in the USA and the United Kingdom in the 1999/2000 season – *Vet Rec*, 2002, 150: 535-537
108. McKeever KH, Hinchcliff KW, Reed SM, Robertson JT - Role of decreased plasma volume in hematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses - *Am J Physiol*, 1993a, 265: 404-408
109. McKeever KH, Hinchcliff KW, Reed SM, Hamlin RL - Splenectomy alters the hemodynamic response to incremental exercise in horse - *American Journal of Physiology*, 1993b, 265: 409-413
110. McKeever KH, Hinchcliff KW - Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure, and cardiovascular function in horse - *Equine Vet J (Suppl)*, 1995, 18: 77-81

111. McKeever KH – Body fluids and electrolytes: responses to exercise and training
– In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – Equine sports medicine and surgery -
Philadelphia: W.B. Saunders, 2004
112. Melvin J, Swenson MJ, Reece WO - Dukes' Physiology of domestic animals.
Ed. Cornell University, 2002, 1024
113. Messina M, Ballan D, Costa E – Il benessere del cavallo sportive – Ippologia,
2006, 2: 21-28
114. Mukai K, Takahashi T, Hada T, Eto D, Kusano K, Yokota S, Hiraga A, Ishida N
– Influence of gender and racing performance on heart rates during submaximal
exercise in thoroughbred racehorses – J Equine Sci, 2003, 14(3): 93-96
115. Mukai K, Takahashi T, Eto D, Ohmura H, Tsubone H, Hiraga A – Heart rate and
blood lactate response in Thoroughbred horses during a race – J Equine Sci, 2007,
18(4): 153-160
116. Mundt VE - Untersuchungen von Mineralstoffen und Enzymen im Blutserum
von Pferden nach submaximaler Ausdauerbelastung im Vergleich zu den in der
Literatur angegebenen Werten - Der Praktische Tierarzt, 1986, 10: 871-879
117. Muñoz A, Castejón FM, Rubio MD, VivoR, Agüera EI, Escribano M,
Santisteban R - How erythrocyte and plasma lactate concentrations are related in
Andalusian horses during an exercise test and recuperation - J Equine Sci, 1996, 7: 34-
42
118. Munoz A, Riber C, Santisteban R, Rubio MD, Aguera EI, Castejon FM -
Cardiovascular and metabolic adaptations in horses competing in cross-country events.
J Vet Med Sci, 1999a, 61: 13-20
119. Munoz A, Santisteban R, Rubio MD, Aguera EI, Escribano BM, Castejon FM -
Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and
Anglo-Arabian horses - Res Vet Sci, 1999b, 66: 25-31

120. Muñoz A, Riber C, Santisteban R, Lucas RG, Castejon FM - Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentration in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds - *Equine Veterinary Journal*, 2002, 34: 245-251
121. Muñoz A, Riber C, Satué K et al - Relationship between systemic adaptation to physical effort and plasma potassium in untrained and trained Andalusian and Angloarabian horses - *J Equine Sci*, 2003, 14: 13-22
122. Muñoz A, Cuesta I, Riber C, Gata J, Trigo P, Castejon FM - Trot asymmetry in relation to physical performance and metabolism in equine endurance rides - *Equine Vet J*, 2006, 36: 50-54
123. Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón F - Erythrocyte indices in relation to hydration and electrolytes in horses performing exercises of different intensity - *Comp Clin Pathol*, 2008, 17: 213-220
124. Naylor JR, Bayly WM, Schott HC 2nd et al - Equine plasma and blood volumes decrease with dehydration but subsequently increase with exercise - *J Appl Physiol*, 1993, 75: 1002-1008
125. Osbaldiston JA, Johnson JH – Effect of ACTH and selected glucocorticoids on circulating blood cells in horses – *J Am Vet med Ass*, 1972, 101: 53-56
126. Overgaard K, Fredsted A, Hyldal A et al - Effects of running distance and training on Ca²⁺ content and damage in human muscle - *Med Sci Sports Exercise*, 2004, 36: 821-829
127. Padalino B, Frate A, Tateo A, Siniscalchi M, Quaranta A – Valutazione dello stato di preparazione atletica del cavallo trottatore su pista dritta mediante determinazione del lattato, del valore ematocrito e di alcuni parametri fisiologici – *Ippologia*, 2005, 16 (1): 31-33

128. Pagliassotti MJ, Donovan CM - Role of cell type in net lactate removal by skeletal muscle - *Am J Physiol*, 1990, 258: 635-642
129. Pellegrini-Masini A, Baragli P, Tedeschi D Lubas G, Martelli F, Gavazza A, Sighieri C - Behaviour of mean erythrocyte volume during submaximal treadmill exercise in the horse - *Comp Haematol Int*, 2000, 10: 38-42
130. Persson SGB - On blood volume and working capacity - *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1967, (Suppl), 19: 1-189
131. Persson SG, Lydin G – Circulatory effects of splenectomy in the horse. – *Zentralbl Veterinarmed A*, 1973, 20: 21-530
132. Persson SGB - Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse - In: *Equine Exercise Physiology*, Snow DH, Persson SGB Rose RJ eds, Granta Editions, Cambridge, UK, 1983, 441-457
133. Phillips SM, Green HJ, Tarnopolsky MA, Grant SM - Increased clearance of lactate after short-term training in men - *J Appl Physiol*, 1995, 79: 1862-1869
134. Piccione G, Giannetto C, Fazio F, Di Mauro S, Caola G - Haematological response to different workload in jumper horses - *BJVM*, 2007, 10: 21-28
135. Pollitt C - Monitoring the heart rates of endurance horses. Part 4 - *Equine Athlete*, 1993, 6: 1-8
136. Poole DC, Erickson HH – Heart and vessels: function during exercise and response to training - Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – *Equine sports medicine and surgery* - Philadelphia: W.B. Saunders, 2004, 699-727
137. Pösö AR, Lampinen KJ, Räsänen LA - Distribution of lactate between red blood cells and plasma after exercise - *Equine vet J*, 1995, 231-234
138. Pösö AR - Monocarboxylate Transporters and Lactate Metabolism in Equine Athletes - A Review *Acta Vet Scand*, 2002, 43(2): 63-74

139. Pösö AR, Hyyppä S, Geor RJ – Metabolic responses to exercise and training –
In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – Equine sports medicine and surgery -
Philadelphia: W.B. Saunders, 2004
140. Quaranta A., Tateo A, Siniscalchi M, Padalino B, Iacoviello R, Centoducati P -
Influenza di diversi tipi di allenamento su cortisolo ematico ed emocromo in cavalli
trottatori - Ippologia, 2006, 17(1): 5-10
141. Radin MJ, Eubank MC, and Weiser MG - Electronic measurement of
erythrocyte volume and volume heterogeneity in horses during erythrocyte regeneration
associated with experimental anemias - Vet Pathol, 1986, 23: 656-660
142. Rainger JE, Evans DL, Hodgson DR, Rose RJ - Distribution of lactate in plasma
and erythrocytes during and after exercise in horses - Brit Vet J, 1995, 151: 299-310
143. Räsänen LA, Lampinen KJ, Pösö AR - Responses of blood and plasma lactate
and plasma purine concentrations to maximal exercise and their relation to performance
in Standardbred trotters - Am J vet Res, 1995, **56**: 1651-1656
144. Rivero José-Luis L, Piercy RJ – Muscle physiology: responses to exercise and
training – In: Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ – Equine sports medicine and
surgery - Philadelphia: W.B. Saunders, 2004, 45-76
145. Rose RJ, Purdue RA, Hensley W - Plasma Biochemistry Alterations in Horses
during an Endurance Ride - Equine Vet J, 1977, 9(3): 122-126
146. Rose RJ, Arnold KS, Church S, Paris R – Plasma and sweat electrolyte
concentrations in the horse during long distance exercise – Eq Vet J, 1980, 12: 19-22
147. Rose RJ - Haematological changes associated with endurance exercise - Vet
Rec, 1982, 110: 175-177
148. Rose RJ - Endurance exercise in the horse - A review - Part I – Br Vet J, 1986a,
142(6): 532-541

149. Rose RJ - Endurance exercise in the horse - A review - Part II – Br Vet J, 1986b, 142(6): 542-552
150. Rose RJ, Allen JR, Hodgson, Stewart JH, Chan W - Responses to submaximal treadmill exercise and training in the horse: changes in haematology, arterial blood gas and acid base measurements, plasma biochemical values and heart rate - Vet Rec, 1983, 113: 612-618
151. Rose RJ, Hodgson DR, Sampson D et al – Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160Km endurance ride – Aust Vet J, 1983b, 60: 101-105
152. Rose RJ, Hodgson DR, Kelso TB, McCutcheon LJ, Reid TA, Bayly WM, Gollnick PD - Maximum O₂ uptake, O₂ debt and deficit, and muscle metabolites in Thoroughbred horses - J Appl Physiol, 1988, 64: 781-788
153. Rose RJ, Hodgson DR, Bayly WM, Gollnick PD - Kinetics of VO₂ and VCO₂ in the horse and comparison of five methods for determination of maximum oxygen uptake - Equine vet J (Suppl), 1990, 9: 39-42
154. Rosedale PD, Burguez PN, Cash RS – Changes in blood neutrophil/lymphocyte ratio related to adrenocortical function in the horse - Equine Vet J, 1982, 14: 293-298
155. Rubio MD, Muñoz A, Santisteban R, Tovar P, Castejón FM - Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arab) subjected to exercise of progressive intensity - J Vet Med Sci, 1995, 57: 311-315
156. Saibene F, Cortili G, Gavazzi P – Maximal anaerobic (lactic) capacity and power of the horse – Equine Vet J, 1985, 17(2): 130-132
157. Santos SA, Silva RAMS, Azevedo JRM, Mello MAR, Soares AC, Sibuya CY, Anaruma CA – Serum electrolyte and total protein alterations in Pantaneiro horse during long distance exercise – Arq Bras Med Vet Zootec, 2001, 53(3): 351-357
158. Schalm OW, Jain NC, Carrol EJ – Veterinary Haematology – 3rd edn. Lea e

Febiger, Philadelphia 1975

159. Schott HC II, McGlade KS, Molander HA et al - Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50- and 100-mile endurance rides - *Am J Vet Res*, 1997, 58: 303-309
160. Scott CM, Marlin DJ, Schroter RC - Thermoregulatory strategies during short-term exercise at different intensities - *Equine Vet J*, 1999, 30: 356-361
161. Sewell DA, Harris RC, Dunnett M - Carnosine accounts for most of the variation in physico-chemical buffering in equine muscle - In: Persson SGB, Lindholm A, Jeffcott LB. , editor. *Equine Exercise Physiology 3*. Davis, CA, ICEEP Publications; 1991, 276-280
162. Sewell DA, Harris RC, Hanák J, Jahn P - Muscle adenine nucleotide degradation in the Thoroughbred horse as a consequence of racing - *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1992, 39: 375-381
163. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Wensing TH, Barneveld A, Breukink HJ - Work-load in the horse during vaulting competition - In: Persson SGB, Lindholm A, Jeffcott LB, (eds). *Equine exercise physiology 3*, ICEEP Publications, Davis, CA, 1991, 331-336
164. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Wensing T, Barneveld A, Breukink HJ - Heart rate, blood biochemistry and performance of horses competing in a 100-km endurance ride - *Vet Rec*, 1991b, 128: 175-179
165. Smith JE, Erickson HH, Debowes RM, Clark M - Changes in circulating equine erythrocytes induced by brief, high-speed exercise - *Equine Vet J*, 1989, 21: 444-446
166. Smith CA, Wagner PC - Elektrolyte mbalances and metabolic disturbances in endurance horses - *Compend Contin Educ Pract Vet*, 1985, 7: 575-585
167. Snow DH, MacKenzie G - Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptations with training - *Equine vet J*, 1977, 9: 134-140

168. Snow DH, Kerr MG, Nimmo MA, Abbott EM - Alterations in blood, sweat, urine and muscle composition during prolonged exercise in the horse - *Vet Rec*, 1982, 110: 377-384
169. Snow DH, Ricketts SW, Mason DK - Haematological response to racing and training exercise in Thoroughbred horse, with particular reference to the leucocyte response. – *Equine Vet J*, 1983a, 15: 149-154
170. Snow DH, Mason DK, Ricketts SW, et al – Post race blood biochemistry in Thoroughbred – In: Snow DH, Persson SGB, Rose RJ eds: *Equine Exercise Physiology*. Cambridge, Granta Editions, 1983b: 389
171. Snow DH, Harris RC - Thoroughbred and greyhounds: biochemical adaptations in creatures of nature and of man - *Circulation, Respiration and Metabolism*. Ed: R. Gilles. Springer-Verlag, Berlin, 1985, 227-259
172. Snow DH, Martin V - Effects of exercise and adrenaline on equine erythrocyte ATP content - *Res Vet Sci*, 1990a, 49: 77-81
173. Snow DH – Haematological, biochemical and physiological changes in horses and ponies during the cross country stage of driving trial competitions – *Vet Rec*, 1990b, 10: 233-238;
174. Snow DH, Valberg SJ - Muscle anatomy, physiology and adaptations to exercise and training - In Rose RJ and Hodgson D.H. (eds) *The athletic horse: principle and practice of equine sports medicine*. Philadelphia PA, W.B. Saunders Co, 1994
175. Steel JD, Whitlock LE – Observation on the haematology of Thoroughbred and Standardbred horses in training and racing – *Aust Vet J*, 1960, 36: 136-142
176. Stevenson ET, Davy KP, Seals DR - Maximal aerobic capacity and total blood volume in highly trained middle-aged and older female endurance athletes - *J Appl Physiol*, 1994, 77(4): 1691-1696

177. Swenson MJ, Reece WO - Fisiologia degli animali domestici. Edizione italiana Gruppo Editoriale Idelson-Gnocchi, Napoli, 2002
178. Valberg S, Johnson L, Lindholm A, Holmgren N - Muscle histopathology and plasma aspartate aminotransferase, creatine kinase and myoglobin changes with exercise in horses with recurrent exertional rhabdomyolysis - *Equine Vet J*, 1993, 25: 11-16
179. Van Beaumont W, Uderkofler S, Van Beaumont S – Erythrocyte volume, plasma volume, and acid-base changes in exercise and heat dehydration – *J Appl Physiol*, 1981, 50: 1255-1262
180. Volfinger L, Lassourd V, Michaux JM, Braun JP, Toutain PL - Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released - *Am Journal of Physiol*, 1994, 266: 434-341
181. Voynick BT, Sweeney CR - Exercised-induces pulmonary hemorrhage in polo and racing horses – *JAVMA*, 1986, 188: 301-302
182. Wade CE, Freund BJ, Claybaugh JR – Fluid and electrolyte homeostasis during and following exercise: hormonal and non-hormonal factors. In: Claybaugh JR, Wade CE, eds. *Hormonal regulation of fluid and electrolyte*. New York: Plenum, 1989: 1-44
183. Warwick B - Foreword. In: *Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and Clinical Sciences of Equine Athlete*, eds K. W. Hinchcliff, A. J. Kaneps & R. J. Geor, Saunders Press, China, 2004.
184. Weiss DJ, Geor RJ, Smith II CM, et al – Furosemide-induced electrolyte depletion associated with echinocytosis in horses – *Am J Vet Res*, 1992, 53: 1769-1772
185. Weiss DJ, Evanson Oa – Effects of sodium and potassium concentrations and pH on equine erythrocyte volume and deformability – *Comp Haematol Int*, 1997, 7: 37-41

186. Weiss DJ, Smith II CM – Haemorrhological alterations associated with competitive racing activity in horses: implications for exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH) – *Equine Vet J*, 1998, 30: 7-12
187. Weiss DJ, Moritz A - Equine immune-mediated hemolytic anemia associated with *Clostridium perfringens* infection - *Vet Clin Pathol*, 2003, 32: 22-26
188. White SL – Fluid, electrolyte, and acid-base balances in three-day, combined-training horses - *Vet Clin NA: Equine Pract* 1998; 14: 137-145